Beiträge zur Isolierung und Struktur genuiner Glykoside in Rhizoma Rhei

Hans-Jürgen Leue

1962

Beiträge zur Isolierung und Struktur genuiner Glykoside in Rhizoma Rhei

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Hohen Naturwissenschaftlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität

zu München

vorgelegt

von

Hans-Jürgen Leue

aus

Lübbecke/Westf.

September 1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Berichterstatter: Prof. Dr. L. Hörhammer

Tag der mündlichen Prüfung: 14. 11. 1962

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

EINLEITUNG 1

ALLGEMEINER TEIL 3

Isolierung der Glykoside 3

Isolierungsverfahren für Anthrachinonglykoside 3

Chromatographische Voruntersuchungen 4

Papierchromatographische Arbeiten 5

Dünnschichtchromatographische Arbeiten 12

Präparative Isolierung der Glykoside 15

Herstellung des Drogenauszuges 15

Säulenchromatographische Auftrennung der Glykoside . 15

Reinigung der Glykoside 18

Strukturaufklärung der Glykoside 19

Identifizierung des Glykosids B 19

Identifizierung des Glykosids D 26

Identifizierung des Glykosids C 32

Identifizierung des Glykosids A 37

Synthese eines Aloeemodinmonoglukosids 39

Darstellung des Aloeemodins 40

Darstellung eines Aloeemodinglukosidhexaacetates 41

Synthetisches Aloeemodinmonoglukosid 42

Herstellung eines Aloeemodinglukosidpentaacetates . . . 43

UV-spektrophotometrische Untersuchungen 43

IR-spektrophotometrische Untersuchungen 46

Papierchromatographische Untersuchungen von Rhizoma Rhei verschiedener Herkunft und deren Zubereitungen 49

EXPERIMENTELLER TEIL 52

A. Allgemeine Arbeitsvorschriften 52

1. Papierchromatographie 52

2. Dünnschichtchromatographie 53

a) Herstellung der Platten 53

b) Fließmittelsysteme 53

Seite

3. Schmelzpunkte 54
4. Mikroanalysen 54
5. Qualitative Hydrolyen 54
6. Quantitative spektrophotometrische Bestimmung der Aglykone 55
7. Quantitative spektrophotometrische Bestimmung der Glukose 55
8. Acetylierungen 56
9. Bestimmung der optischen Drehung 57
10. Messung der UV-Spektren 57
11. Messung der IR-Spektren 57

B. Gewinnung der Glukoside 57
1. Herstellung des Drogenauszuges 57
2. Isolierung der Glukoside auf der Polyamidsäule . . . 58
3. Reinigung der Glukoside 59

C. Spezielle chromatographische Untersuchungen 60
1. Säulenchromatographische Auftrennung eines methanolischen Gesamtextraktes 60
2. Papierchromatographie verschiedener Rheum-Drogen und der Arzneibuchzubereitungen 62

D. Identifizierung der Glukoside 63
1. 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid 63
2. 1,8-Dihydroxy-3-methyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid 64
3. 1,8-Dihydroxy-3-methyl-6-methoxy-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid 66
4. 1,6,8-Trihydroxy-3-methyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid 68

E. Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-1-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid 70
1. Reinigung des Aloins 70
2. Gewinnung von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon 70
3. Identifizierung des 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinons 71

Seite

4. Darstellung von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethylanthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid-tetraacetat 72
5. Vollständige Acetylierung des 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid-tetraacetates 73
a) Acetylierung in Pyridin-Essigsäureanhydrid 73
b) Acetylierung in Essigsäureanhydrid-Natriumacetat . . 74
6. Verseifung des 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid-hexaacetates 74
7. Experimentelle Daten des synthetischen 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosids 75
8. Acetylierung des synthetischen 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosids 76

E i n l e i t u n g

Trotz umfangreicher Arbeiten über die Inhaltsstoffe des Rhizoms von Rheum palmatum L. var.tanguticum Max. sind die Untersuchungen über diese pharmazeutisch wichtige Droge bis heute nicht abgeschlossen. Bereits um die Jahrhundertwende befaßten sich KUBLY[1], AWENG[2], TSCHIRCH[3)4)], HESSE[5], OESTERLE[6], TUTIN[7] und andere mit dem wirksamen Prinzip des Rhabarbers. Sie untersuchten vor allen Dingen Anthrachinon a g l y k o n e . Ihre Arbeiten wurden fortgesetzt von GILSON[8)9)10)], BELLAART[12)13)14)15)16)], NEUHOFF[17], AUTERHOFF[18], SHIBATA[19] und SCHRATZ[20)21)], die ihr Hauptaugenmerk auf die genuinen Anthrachinon g l y k o s i d e richteten. Bei diesen Untersuchungen stellte sich heraus, daß eine Isolierung der in der Droge vorliegenden Anthrachinonglykoside infolge der Vielzahl der chemisch sehr ähnlichen Inhaltsstoffe mit den herkömmlichen Methoden undurchführbar war.

Rhizoma Rhei enthält einen Komplex von mindestens acht Glykosiden, deren Bearbeitung nicht Gegenstand einer einzigen Dissertation sein konnte. Wir führten unsere Untersuchungen daher im Rahmen einer Teamarbeit durch. Die Isolierung eines Rheinmono- und -diglukosids durch MEYER[22] waren die ersten Ergebnisse dieser Bemühungen.

---

1) M.M.KUBLY, Arch.Pharmaz., 184, 7 (1868)
2) E.AWENG, Schweiz.Wschr.Chem.Pharmaz., 445 (1898)
3) A.TSCHIRCH, Ber.dtsch.pharmaz.Ges., 174 (1898)
4) A.TSCHIRCH u. K.HEUBERGER, Arch.Pharmaz., 240, 596 (1902)
5) O.HESSE, Liebigs Ann.Chem., 309, 32 (1899)
6) O.A.OESTERLE, Arch.Pharmaz., 249, 445 (1911)
7) F.TUTIN u. W.B.CLEVER, J.chem.Soc.(London), 99, 946 (1911)
8) E.GILSON, Arch.intern.Pharmacodynam.Therap., 14, 453 (1905)
9) E.GILSON, Mem.Acag.roy.med.Belg., 455 (1905)
10) E.GILSON, Rev.Pharm., 366 (1906)
11) J.W.FAIRBAIRN u. T.C.LOU, J.Pharmacy Pharmacol., 3, 93 (1951)
12) A.C.BELLAART, Pharmac.Weekbl., 87, 33 (1952)
13) A.C.BELLAART u. F.H.L.VAN OS, Pharmac.Weekbl., 88, 449 (1952)
14) A.C.BELLAART, Pharmac.Weekbl., 93, 1077 (1958)
15) A.C.BELLAART, Dissertation, Groningen (1952)
16) A.C.BELLAART, Pharmac.Weekbl., 97, 105 (1962)
17) E.W.NEUHOFF u. H.AUTERHOFF, Dtsch.Apotheker-Ztg., 94, 511 (1954)
18) H.AUTERHOFF, Arzneimittel-Forsch., 3, 23 (1953)
19) S.SHIBATA u. M.TAKIDO, J.pharmac.Soc.Japan, 72, 1311 (1952)
20) E.SCHRATZ u. H.TOMBERGS, Arzneimittel-Forsch., 4, 678 (1954)
21) E.SCHRATZ u. H.J.VETHACKE, Planta medica, 6, 44 (1958)
22) K.MEYER, Dissertation, München (1961)

Die vorliegenden Untersuchungen befassen sich im wesentlichen mit der Isolierung der anderen Anthrachinonmonoglykoside aus der Rhabarberwurzel. Ihre Konstitution sollte dabei durch Vergleich mit bereits bekannten isolierten oder synthetisierten Glykosiden, gegebenenfalls durch Neusynthese geklärt werden.

Allgemeiner Teil

Isolierung der Glykoside

Die Isolierungsverfahren für Anthrachinonglykoside

Zur Isolierung von Anthrachinonglykosiden kommen verschiedene Verfahren in Betracht, die getrennt für sich oder miteinander kombiniert verwendet werden können. Diese wurden von MEYER[23] bereits eingehend diskutiert und sollen hier nur kurz erwähnt werden.

a) Das klassische Verfahren der selektiven Extraktion einer Droge mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln zeigt nur in wenigen Fällen den gewünschten Erfolg. Es erscheint vor allen Dingen dann zweckmäßig, wenn in der Pflanze nur ein oder zwei Glykoside mit wenig Gerbstoff vorliegen, wie es u.a. bei den Untersuchungen von ANDERSON[24] an der Wurzelrinde von Morinda citrifolia der Fall war. Auch das Arbeiten mit Lösungsmittelgemischen (GILSON[25] und BELLAART[26][27]) liefert bei Glykosidkomplexen stets nur ein kristallines Gemisch dieser Stoffe. So gelang es beispielsweise GILSON[25] das "Rheopurgarin", ein Gemisch aus vier Glykosiden, zu isolieren. Aus diesem konnte er durch mehrfaches Ausschütteln mit Alkalikarbonatlösungen das "Chrysophanein", ein Glukosid der Chrysophansäure, unter großen Verlusten darstellen. Weitere Versuche, die restlichen Bestandteile nach der klassischen Methode abzutrennen, schlugen fehl und lieferten nur das "Rheochrysin". Bei diesem Stoff handelt es sich offensichtlich um ein mit Physcionglykosid angereichertes Präparat.

b) Die präparative Gewinnung der Glykoside über ihre Salze, wie sie von CASPARIS[28], SCHUNK[29] und STOLL[30] beschrieben wird, scheint

---

23) K.MEYER, Dissertation, München (1961)
24) T.ANDERSON, Liebigs Annal.Chem., 71, 216 (1849)
25) E.GILSON, Arch.intern.Pharmacodynam.Therap., 14, 453 (1905)
26) A.C.BELLAART, Pharmac.Weekbl., 87, 33 (1952)
27) A.C.BELLAART u. F.H.L.VAN OS, Pharm.Weekbl., 88, 449 (1952)
28) P.CASPARIS u. R.MAEDER, Schweiz.Apotheker-Ztg., 63, 313 (1925)
29) E.SCHUNK u. L.MARCHLEWSKI, J.chem.Soc.(London), 63, 969,1173(1893)
30) A.STOLL, B.BECKER u. W.KUSSMAUL, Helv.chim.Acta, 32, 1892 (1949)

nur dann erfolgversprechend, wenn die Glykoside von ihren Ballaststoffen abgeschieden werden sollen, nicht aber um die Glykoside untereinander zu trennen.

c) Als modernstes Verfahren bietet sich die Säulenchromatographie an. Sie wurde von ZINN[31] und FISCHER-JØRGENSEN[32] an Bariumsulfat und Calciumkarbonat zunächst erfolglos erprobt. Erst SCHULTZ[33] zeigte die Vorteile dieser Methode. Er prüfte die verschiedensten Adsorbentien auf ihre Eignung und isolierte über Magnesol- und Ionenaustauschersäulen aus den Blättern von Rheum undulatum ein Rheumemodinmonoglukosid in kristalliner Form. MEYER[34] konnte erstmalig in einer kombinierten Chromatographie an Polyamid- und Ionenaustauschersäulen zwei Rheinglukoside aus Rheum palmatum isolieren. Hier lag das Problem im wesentlichen in der Beseitigung des Gerbstoffs, der mit seinen lösungsvermittelnden Eigenschaften (siehe auch GILSON[35]) die Isolierung der Anthrachinonglykoside erheblich erschwert.

Die Problemstellung in unserem Fall bestand darin, neben der Entfernung des Gerbstoffs die strukturell sehr ähnlichen Glykoside in einem selektiven Verfahren voneinander zu trennen.

Eigene Untersuchungen

Chromatographische Voruntersuchungen

Bei phytochemischen Isolierungsarbeiten sind geeignete chromatographische Untersuchungsverfahren erforderlich, um jederzeit das Ergebnis der Isolierung überprüfen zu können. Die Frage nach einer brauchbaren Methode stand somit am Anfang unserer Untersuchungen. Wir lösten sie zum Teil gemeinsam mit MEYER[34], der in seiner Dissertation darüber berichtet hat.

---

31) W.ZINN, Dissertation, Zürich (1945)
32) P.FISCHER-JØRGENSEN, Dissertation, Kopenhagen (1948)
33) O.E.SCHULTZ u. G.MAYER, Arzneimittel-Forsch., 6, 334 (1956)
34) K.MEYER, Dissertation, München (1961)
35) E.GILSON, Arch.intern.Pharmacodynam.Therap., 14, 453 (1905)

Papierchromatographische Arbeiten

Auf der Suche nach einem papierchromatographischen Trennungsverfahren für Anthrachinonglykoside überprüften wir eine Reihe von Fließmittelsystemen, die in der nachfolgenden Tabelle 1 zusammengefaßt sind.

T a b e l l e 1

Übersicht über die geprüften Fließmittel zur Trennung von Anthrachinonglykosiden

	System	Autor
I	Butanol 4 Eisessig 1 Wasser 5	Dissertation KÖHLER[36]
II	Butanol wasserges.	Dissertation KÖHLER[36]
III	Butanol 5 Methanol 5 Wasser 2	SCHRATZ u. VETHACKE[37]
IV	Benzol 4 Aceton 1 Wasser 2	BETTS, FAIRBAIRN u. MITAL[38]
V	Äthanol 96% 10 Wasser 3 (Karbonatpapier)	AUTERHOFF u. MAISS[39]
VI	n-Propanol 6 Äthylacetat 1 Wasser 3	MERCK[40]
VII	n-Propanol 4 Äthylacetat 3 Wasser 3	HÖRHAMMER, WAGNER u. LEUE[41]

Das System VI zeigte die besten Ergebnisse. Wir veränderten es in seinen Volumenverhältnissen zu VII und erreichten damit im gesamten R_f-Bereich eine noch bessere Auftrennung der Anthrachinonglykoside.

36) I.KÖHLER, Arch.pharmaz., 292, 591 (1959)
37) E.SCHRATZ u. H.J.VETHACKE, Planta medica, 6, 44 (1958)
38) T.J.BETTS, J.W.FAIRBAIRN u. V.K.MITAL, J.Pharmacy Pharmacol., 10, 436 (1958)
39) H.AUTERHOFF u. N.MAISS, Dtsch.Apotheker-Ztg., 98, 659 (1958)
40) E.MERCK, Chromatographie, Darmstadt 1958, S. 80
41) L.HÖRHAMMER,H.WAGNER u.H.-J.LEUE,Dtsch.Apotheker-Ztg.,99,1043(1959)

Da in der Droge zu einem geringen Prozentsatz auch freie Anthrachinone vorkommen, benötigten wir ein weiteres Verfahren. Eine chromatographische Untersuchungsmethode für Aglykone war außerdem wichtig, um die Spaltprodukte der hydrolysierten Glykoside oder Glykosidgemische rasch identifizieren zu können. Die in Frage kommenden und getesteten Laufmittel sind in der nachfolgenden Tabelle 2 zusammengefaßt.

T a b e l l e 2

Übersicht über die geprüften Fließmittel zur Trennung freier Anthrachinone

	System	Autor
I	Toluol	BETTS, FAIRBAIRN u. MITAL[42)]
II	Petroläther 4 Toluol 1 Xylol 1 Methanol 1	SCHRATZ u. VETHACKE[43)]
III	Petroläther 4 Toluol 1 Xylol 1 Methanol 2	HÖRHAMMER, WAGNER u. LEUE[44)]

Das Fließmittel II zeigte eine befriedigende Trennung. Eine geringe Abänderung zu System III lieferte noch bessere Ergebnisse.

Papierchromatographie der hydrolysierten Rheumanthrachinone

Wir prüften zunächst die für unsere Isolierungsarbeiten zur Verfügung stehende Handelsdroge*) auf ihre Anthrachinonbestandteile. Da bekanntlich über die G l y k o s i d e bisher nur wenig bekannt war, untersuchten wir zunächst die A g l y k o n e , die bei der hydrolytischen Spaltung entstehen. Wir erhitzten etwas Droge mit

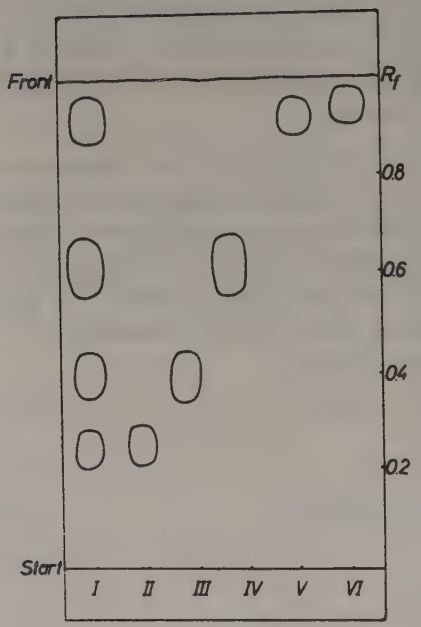
42) T.J.BETTS, J.W.FAIRBAIRN u. V.K.MITAL, J.Pharmacy Pharmacol., 10, 436 (1958)
43) E.SCHRATZ u. H.J.VETHACKE, Planta medica, 6, 44 (1958)
44) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER u. H.J.LEUE, Dtsch.Apotheker-Ztg., 99, 1043 (1959)
*) Rhiz.Rhei sinensis pulv. der Fa. H.Unfried, München

5% Salzsäure, schüttelten die freien Anthrachinone in Äther und brachten diesen zur Chromatographie. Als Vergleich dienten uns authentische Testsubstanzen. Wie die nachfolgende Abbildung 1 zeigt, enthielt die Droge R h e i n , A l o e e m o d i n , C h r y s - p h a n s ä u r e , R h e u m e m o d i n und P h y s c i o n . Es handelt sich dabei um alle Anthrachinone der Rhabarberwurzel, die bisher beschrieben wurden.

Aus der Abbildung geht hervor, daß die Trennung des Physcions von der Chrysophansäure nicht befried-igt. Papierchromatographisch besteht nach unseren Erfahrungen keine Möglichkeit, die beiden Stoffe besser aufzutrennen. Selektiver war in diesem Fall die Dünnschichtchromatographie an Polyamid nach RÖSLER[45]. Als Lösungsmittel wurde Methanol/Chloroform (95:5) verwendet.

45) H.RÖSLER, Dissertation, München (1960)

Abb. 1



Papierchromatographische Trennung der freien Anthrachinone in Rhizoma Rhei nach Hydrolyse.

Laufmittel: Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol (4:1:1:2) aufsteigend

I = freie Anthrachinone aus Rhizoma Rhei nach der Hydrolyse
II = Rhein-Test
III = Aloeemodin-Test
IV = Rheumemodin-Test
V = Chrysophansäure-Test
VI = Physcion-Test

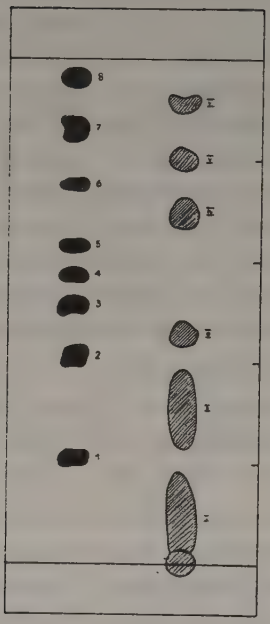
Papierchromatographische Trennung eines Rheumextraktes

Im Anschluß an die Chromatographie der freien Anthrachinone untersuchten wir die uns zur Verfügung stehende Droge auf ihren Gehalt an Glykosiden. Einen heiß bereiteten methanolischen Gesamtextrakt des Rhizoms chromatographierten wir zu diesem Zweck in dem bereits beschriebenen System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser. Bei der Auswertung des Chromatogramms im UV-Licht zeigten sich nach dem Besprühen mit 1%iger methanolischer Magnesiumacetatlösung acht orange fluoreszierende Flecken, die über den gesamten R_f-Bereich verteilt waren. Im unteren Teil des Chromatogramms traten braune Zonen auf, während im mittleren und oberen Bereich noch eine Reihe türkis, hellgrün und blau fluoreszierender Flecke lagen.

Bei den orange fluoreszierenden Flecken 1 - 8 handelt es sich um Anthrachinone. Die Substanzen I und II sind Gerbstoffen zuzuordnen. Fleck III (türkis), IV (hellgrün), V (ocker) und VI (blau) sind Stoffe unbekannter Natur. (siehe Abb. 2, S. 10)

Wir bemühten uns nun, die einzelnen Anthrachinone auf dem Papierchromatogramm zu identifizieren. Bei Fleck 5 und 8 mußte es sich anhand des Vergleichs mit Testsubstanzen um Aglykone handeln. Danach entsprach Fleck 5 in seiner Laufhöhe dem Rhein, während in Fleck 8 die restlichen freien Anthrachinone zusammen fielen. Alle anderen Anthrachinonzonen mußten Glykosiden zugeordnet werden. Versuche, diese Glykoside über Streifenchromatogramme anzureichern, zeigten kein befriedigendes Ergebnis. Die endgültige Ausdeutung des Chromatogrammbildes war erst nach Vorfraktionierung eines Rheumextraktes auf einer Polyamidsäule möglich. Die Auftrennung erfolgte dabei auf einem ähnlichen Wege wie er später bei der Isolierung der Anthrachinonglykoside benutzt wurde. Im Gegensatz zu den Isolierungsarbeiten kam hier ein methanolischer Gesamtauszug zur Anwendung, dessen Bestandteile wir zunächst mit Wasser, dann mit Methanol/Wassergemischen, später mit reinem Methanol und zum Schluß mit n/2 Kalilauge restlos von der Säule eluierten. Die einzelnen Fraktionen wurden chromatographiert, anschließend der Hydrolyse unterworfen und die gebildeten Aglykone auf papierchromatographischem Wege identifiziert. Das Ergebnis dieser Untersuchungen wird durch die nachfolgende Tabelle 3 (S. 11) veranschaulicht.

Abb. 2



Papierchromatographische Auftrennung der Glykoside eines Methanolextraktes von Rhizoma Rhei

Laufmittel: n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3)
aufsteigend
besprüht mit 1%iger methanolischer Magnesium-acetatlösung

Tabelle 3

Tabellarische Auswertung der papierchromatographischen Auftrennung der Anthrachinonglykoside von Rhizoma Rhei

Fleck	R_f-Wert	Farbe im UV-Licht	Zuordnung
I		braun	Gerbstoffe
1	0.21	orange	Rheinglykosid
II		braun	Gerbstoffe
2	0.41	orange	Rheinglykosid
III		türkis	
3	0.51	orange	Aloeemodinglykosid
4	0.57	orange	Chrysophansäure-glykosid
5	0.63	fahlgelb	Rheinaglykon
IV		hellgrün	
6	0.75	gelborange	Aloeemodinglykosid
V		ocker	
7	0.86	orange	Chrysophansäure-glykosid Physcionglykosid Rheumemodinglykosid
VI		blau	
8	0.96	gelb	freie Anthrachinone

Die Auswertung der Tabelle zeigt, daß mehrere Flecken des Chromatogramms das gleiche Aglykon ergeben. Dieses Ergebnis mag damit zu erklären sein, daß die einzelnen Anthrachinone mit einer wechselnden Zahl von Zuckern verglykosidiert sind, wie es u.a. von Cortex Frangulae her bekannt ist. Nach unseren eigenen Untersuchungen und den Arbeiten von MEYER[46] liegen die Anthrachinone, die durch Fleck 2, 6 und 7 charakterisiert sind, als Monoglukoside vor. Es handelt sich bei Fleck 2 um das Rheinmonoglukosid und bei Fleck 6 um das Aloeemodinmonoglukosid, während Fleck 7 von drei weiteren Monoglukosiden gebildet wird, dem Rheumemodin-, Physcion- und Chrysophansäuremonoglukosid. Diese drei Substanzen voneinander zu trennen, war durch Variierung des Lösungsmittels nicht möglich.

46) K.MEYER, Dissertation, München (1961)

Für Fleck 1 konnte MEYER[47] ein Rheindiglukosid wahrscheinlich machen. Es hat einen erheblich tieferen R_f-Wert als das Rheinmonoglukosid (Fleck 2). Für die Substanzen in Zone 3 (Aloeemodinglukosid) und Zone 4 (Chrysophansäureglykosid) trifft die gleiche Beobachtung zu. Sie zeigen eine geringere Laufhöhe als die entsprechenden Monoglykoside in Fleck 6 bzw. 7. Damit liegt die Vermutung nahe, daß die Glykoside mit tieferem R_f-Wert ebenfalls als Diglykoside vorliegen. Diese Theorie fand ihre Bestätigung in der Beobachtung, daß bei der Aufarbeitung der Säulenfraktionen die Glykoside mit niedrigerem R_f-Wert wohl infolge der hydrolytischen Abspaltung eines Zuckers nicht mehr nachzuweisen waren und dafür die entsprechenden Monoglukoside im Chromatogrammbild aufgefunden wurden.

Zusammenfassend ergibt sich: Die Papierchromatographie im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser ist gut geeignet, die Rhabarberwurzel auf ihre gesamten Anthrachinonbestandteile zu untersuchen. Die Auftrennung der Anthrachinonmonoglykoside, deren Isolierung und Identifizierung Ziel unserer Arbeiten war, konnte jedoch nicht befriedigen. Wir mußten uns daher nach einem anderen Verfahren umsehen, um diese Substanzen einwandfrei nachweisen zu können. Die Dünnschichtchromatographie bot hier eine zufriedenstellende Lösung.

Dünnschichtchromatographische Arbeiten

In den letzten Jahren hat die Dünnschichtchromatographie immer mehr an Bedeutung gewonnen. Die Schnelligkeit dieses Verfahrens, seine guten Trenneigenschaften und die bei der Papierchromatographie auftretenden Schwierigkeiten veranlaßten uns, diese Methode zu erproben. Die Dünnschichtchromatographie nach STAHL[48] auf Kieselgel G brachte aber gegenüber dem Papier zunächst keine bedeutenden Vorteile. Nachdem die Fraktionierungsversuche an Polyamidsäulen die Eignung dieses Adsorbens für die Trennung von Anthrachinonglykosiden gezeigt hatte, lag es nahe das von RÖSLER[49] ausgearbeitete Verfahren der Polyamiddünnschichtchromatographie einzusetzen.

---

47) K.MEYER, Dissertation, München (1961)
48) E.STAHL, Chemiker-Ztg., 82, 323 (1952)
49) H.RÖSLER, Dissertation, München (1960)

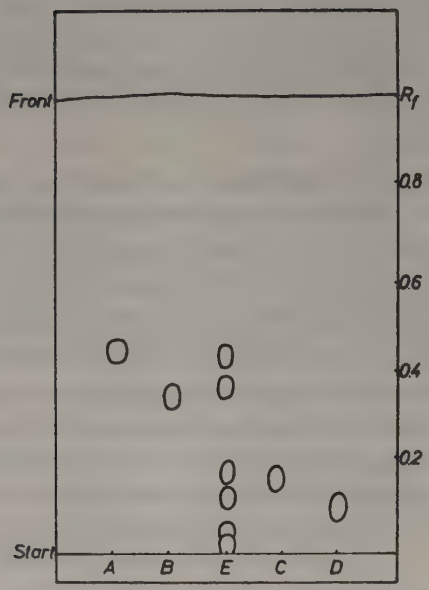
Dünnschichtchromatographische Trennung eines Rheumextraktes

Wir führten unsere Untersuchungen mit einem Methanolauszug von Rhizoma Rhei durch. Dabei erwiesen sich Gemische aus Methanol und Wasser als beste Laufmittel. Mit einem Methanol/Wasser-Gemisch (6:4) konnten wir diejenigen Monoglykoside einwandfrei trennen, deren Aufspaltung im Papierchromatogramm nicht gelang. Die nachfolgende Abbildung 3 zeigt die Auftrennung der in Frage kommenden vier Monoglykoside, wobei "reine" Säulenfraktionen späterer Untersuchungen als Testsubstanzen dienten.

Neben der Trennung der Monoglukoside versuchten wir auf der Polyamidplatte auch eine Trennung der Chrysophansäure und des Physcions. Verwendet man Methanol mit einem Zusatz von 5% Chloroform, so läßt sich auch dieses "kritische Anthrachinonpaar" trennen. Zur Auftrennung der restlichen Aglykone war jedoch nach unseren bisherigen Erfahrungen die papierchromatographische Methode besser geeignet.

Damit stellt die Dünnschichtchromatographie an Polyamid eine wertvolle Ergänzung der papierchromatographischen Methode dar. Sie ermöglicht die exakte Trennung und Identifizierung der interessierenden Monoglukoside und ist wegen seiner Schnelligkeit für orientierende Teste während des Isolierungsganges besonders geeignet.

Abb. 3



Dünnschichtchromatographische Auftrennung der Monoglykoside eines Methanolauszuges von Rhizoma Rhei

Adsorbens: Polyamid
Laufmittel: Methanol/Wasser (6:4)

A = Aloeemodinmonoglukosid
B = Chrysophansäuremonoglukosid
E = methanolischer Rheumauszug
C = Physcionmonoglukosid
D = Rheumemodinmonoglukosid

Präparative Isolierung der Glykoside

Herstellung des Drogenauszuges

Zunächst bestand für uns die Aufgabe, die angegebenen Anthrachinonmonoglukoside der Droge anzureichern. Zu diesem Zweck perkolierten wir Rhizoma Rhei*) in einer Soxhletapparatur erschöpfend mit Äthylacetat. Der Extrakt wurde vom abgeschiedenen Gerbstoff abfiltriert, das Äthylacetat im Vakuum völlig abgedampft und der Rückstand in Methanol aufgenommen. Die Methode weicht von den Verfahren anderer Autoren[50)51)52)] ab, die ihre Auszüge vornehmlich durch methanolische Extraktion herstellten. Das von uns gewählte Lösungsmittel hat den Vorteil, daß nur die Monoglykoside erfaßt werden, denen unser Studium gelten sollte. Außerdem werden nur verhältnismäßig geringe Gerbstoffmengen gelöst, die bekanntlich die Isolierung der Glykoside erheblich erschweren.

Säulenchromatographische Auftrennung der Glykoside

SCHULTZ und MAYER[53)] stellten bereits die gute Eignung der Adsorptionschromatographie zur Auftrennung anthrachinonhaltiger Pflanzenauszüge fest. Die von ihnen verwendeten Adsorbentien erwiesen sich jedoch für unsere Arbeiten als ungeeignet. Unsere Wahl fiel auf Polyamid. Dieses war bereits erfolgreich zur Isolierung anderer phenolischer Substanzen verwendet worden. GRASSMANN und Mitarbeiter[54)55)] benutzen das Polyamid mehrfach zur Abtrennung von Gerbstoffen, während HÖRHAMMER und Mitarbeitern[56)57)58)] auf diesem Wege die Reindarstellung einer Reihe von Flavonen gelang.

---

50) A.TSCHIRCH u. K.HEUBERGER, Arch.Pharmaz., 240, 596 (1902)
51) F.TUTIN u. H.W.B.CLEVER, J.chem.Soc.(London), 99, 946 (1911)
52) K.MEYER, Dissertation, München (1961)
53) O.E.SCHULTZ u. G.MAYER, Arzneimittel-Forsch., 6, 334 (1956)
54) W.GRASSMANN, H.HÖRMANN u. A.MARTL, Makromolekulare Chem., 21, 37 (1957)
55) W.GRASSMANN, H.ENDRES, W.FAUCKNER u. H.MATHES, Chem.Ber., 90, 1125 (1957)
56) L.HÖRHAMMER, I.IZQUIERDO-SORLI, H.WAGNER u. L.ENDRES, Arch. Pharmaz. 291, 268 (1958)
57) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER u. W.LEEB, Naturwissenschaften, 44, 513 (1957)
58) L.HÖRHAMMER, H.WAGNER u. W.LEEB, Arch.Pharmaz., 293, 264 (1960)
*) Handelsdroge der Fa. H.Unfried, München

Zur Isolierung von Rhabarberinhaltsstoffen wurde die Polyamidchromatographie erstmalig von CARELLI[59] und MEYER[60] herangezogen. CARELLI isolierte über eine Polyamidsäule verschiedene Anthrachinonaglykone eines hydrolysierten Drogenauszuges, während in unserem Arbeitskreis mit der gleichen Methode zwei Rheinglukoside abgetrennt werden konnten. Ausschlaggebend für die Verwendung von Polyamid war für uns die Tatsache, daß diese Substanz chemisch recht gleichartig gebaute Stoffe selektiv adsorbiert. So liegt beispielsweise der Unterschied zwischen dem Chrysophansäure-Glykosid und dem Aloe-Emodin-Glykosid nur in einer Methyl- bzw. Hydroxymethylgruppe am C_3 des Anthrachinon Moleküls.

Vorversuche zur Trennung des Komplexes der vier Monoglykoside auf einer Polyamidsäule mit Hilfe von Methanol zeigten zunächst nicht den gewünschten Erfolg. Erst durch die Variierung des Lösungsmittels konnte eine befriedigende Trennung erreicht werden. Wir arbeiteten mit Methanol/Wasser-Gemischen in steigender Methanolkonzentration. Infolge der unterschiedlichen Löslichkeit der Glykoside in dem Lösungsmittelgemisch und der verschieden starken Adsorption dieser Stoffe an Polyamid gelang es in einem Arbeitsgang, alle vier Monoglykoside nacheinander von der Säule zu eluieren und nach dem Einengen in kristalliner Form zu erhalten.

Zu diesem Zweck wurde der eingangs beschriebene Drogenauszug auf eine Polyamidsäule gebracht. Diese eluierten wir zunächst mit 40% Methanol, bis nach einigen Vorfraktionen die erste "Anthrachinonzone" praktisch völlig von der Säule abgetropft war. Hierauf wurde die Alkoholkonzentration auf 50% erhöht und das nächste Glykosid vom Polyamid gelöst. Später entwickelten wir mit 60%igem Methylalkohol und die letzte Zone erhielten wir mit 70-100%igem Methanol. Auch hier wurde die Alkoholkonzentration erst nach der völligen Elution des jeweiligen Glykosides erhöht.

Die erhaltenen Fraktionen wurden mit A, B, C und D bezeichnet. Auf der Säule verblieben die Aglykone und Gerbstoffe. Der Verlauf der Trennung auf der Säule ist in der nachfolgenden Tabelle 4 wiedergegeben.

---

59) V.CARELLI u. H.GIULIANI, Farmaco 12, 184 (1957)
60) K.MEYER, Dissertation, München (1961)

Tabelle 4

Tabellarische Darstellung der Auftrennung eines Extraktes aus Rhizoma Rhei auf der Polyamidsäule

Zone	Farbe im UV-Licht	Methanol-konzentration	Substanz
I	blau	40%	unbekannte Substanz
II	grün	40%	unbekannte Substanz
III	orange	40%	A Aloeemodinglykosid
IV	orange	50%	B Chrysophansäureglykosid
V	orange	60%	C Physcionglykosid
VI	rotorange	70-100%	D Rheumemodinglykosid

Der Verlauf der Trennung wurde stets im UV-Licht verfolgt. Auf der Dünnschichtplatte überzeugten wir uns von dem Grad der erreichten Auftrennung, indem wir sämtliche Fraktionen chromatographierten. Diejenigen der gleichen Zusammensetzung wurden zusammengefaßt und auf dem Wasserbad bei Temperaturen von etwa 60°C zur Trockne eingedampft. Den Rückstand lösten wir in wenig heißem Methanol. In der Kälte fielen dann sämtliche Glykoside in kristalliner Form an. Die einzelnen Glykoside waren allerdings noch nicht völlig rein, was vor allem aus den großen Schmelzpunktsintervallen hervorging. Der Grund ist zunächst in einer geringfügigen Verunreinigung mit einem der anderen Glykoside zu suchen. Zum anderen müssen aus der Säule mitgeschlepptes Perlon und Spuren von Gerbstoff für die nicht exakten Schmelzpunkte verantwortlich gemacht werden.

Die bei unsachgemäßer Entwicklung der Säule auftretenden Mischfraktionen konnten leicht über eine zweite Polyamidsäule aufgetrennt werden. Dabei war jedoch die Verwendung von Methanol/Wasser-Gemischen unnötig. Die Elution konnte hier mit reinem Methanol erfolgen.

Das geschilderte Isolierungsverfahren ist bei Einhaltung der angegebenen Bedingungen gut reproduzierbar. Lediglich die Trennung der Substanz A und B ist etwas schwierig zu verfolgen, da sie erst im unteren Teil der Säule eintritt.

Gegenüber früheren Isolierungsmethoden zeigt unser eben beschriebenes Verfahren große Vorteile. In einem Arbeitsgang wurden vier Glykoside erhalten, deren Auftrennung nach den klassischen Verfahren bisher als unmöglich galt, so daß infolge der guten Reproduzierbarkeit die Methode auch zur Isolierung von Anthrachinonglykosiden aus anderen Drogen empfohlen werden kann.

Reinigung der Glykoside

Die chromatographische Untersuchung sowie Bestimmung des Schmelzpunktes der Rohkristallisate zeigte, wie bereits erwähnt, nur noch eine geringe Verunreinigung mit anderen Substanzen. Da die Glykoside mit steigendem Reinheitsgrad in Methanol immer schwerer löslich werden, konnten wir A, B und C durch mehrfaches Umkristallisieren aus diesem Lösungsmittel in chromatographisch und schmelzpunktsreiner Form erhalten.

Große Schwierigkeit bot dagegen zunächst die Reinigung des Glykosides D. Hier ergab sich das Problem, das begleitende Polyamid zu entfernen. Dieses stellt bekanntlich ein Gemisch aus monomerem und polymerem Caprolactam dar. Die monomeren Bestandteile lösen sich verhältnismäßig gut in organischen Lösungsmitteln und gelangen so in die einzelnen Fraktionen. Das von uns verwendete Ultramid K 228 BM 2, der Fa. BASF, Ludwigshafen, kommt zwar schon unter der Bezeichnung "monomeren arm" in den Handel, dennoch reicht dieser geringe Anteil aus, die Glykoside zu verunreinigen. Ein längeres Auswaschen der Säule mit Methanol blieb ohne den gewünschten Erfolg, da sich immer wieder ein Gleichgewicht zwischen der Polymerphase und den monomeren Anteilen einstellt. Bei den Glykosiden A, B und C trat infolge der guten Kristallisationseigenschaften diese Verunreinigung kaum in Erscheinung. Bei Glykosid D kommt neben seinem schlechten Kristallisationsvermögen erschwerend hinzu, daß zu seiner Ablösung von der Säule sehr große Mengen Methanol erforderlich sind. Damit ist in diesem Fall der begleitende Polyamidanteil besonders hoch. Nach vielen vergeblichen Versuchen mazerierten wir zum Schluß das Rohkristallisat mehrfach in der Kälte mit n-Butanol, filtrierten das zurückbleibende Perlon ab und dampften das Lösungsmittel unter vermindertem Druck ein. Den Rückstand lösten wir in heißem Methanol und

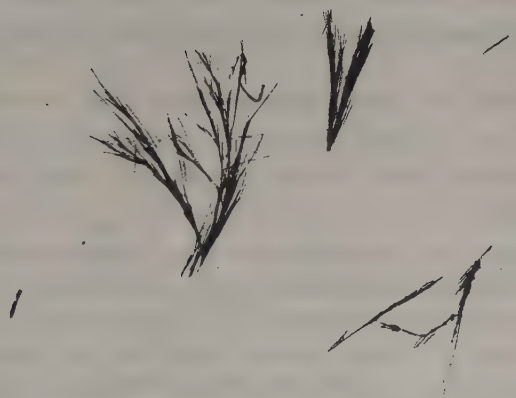
stellten die Lösung nach Zusatz einiger Tropfen Essigsäure in den Eisschrank. Nach etwa einer Woche erhielten wir auch das Glykosid D in reiner, kristalliner Form.

Strukturaufklärung der Glykoside

Identifizierung des Glykosids B

Das Glykosid B stellt eine intensiv gelb gefärbte Substanz dar. Sie kristallisiert aus Methanol in langen gelben Nadeln aus (siehe Abb. 4).

Abb. 4



Glykosid B = Chrysophansäuremonoglukosid
10fache Vergrößerung

Der Schmelzpunkt liegt bei 246-247°C, wobei sich die Substanz unter Braunfärbung zersetzt. In Wasser, Aceton und Äthylacetat ist die Substanz gut, in Methanol und Äthanol weniger löslich, in Benzol, Äther und Petroläther dagegen unlöslich.

Qualitative Aglykon- und Zuckerbestimmung

Die Säurehydrolyse im wässrigen Medium liefert ein gelb gefärbtes Aglykon, das nach mehrfacher Sublimation einen Schmelzpunkt von 194-196°C aufweist. Diesem Schmelzpunkt entspricht laut Literaturangaben die Chrysophansäure. Der papierchromatographische Vergleich mit authentischen Testsubstanzen zeigte den gleichen R_f-Wert sowie übereinstimmende Farbe im Tageslicht und gleiche Fluoreszenz im UV-Licht. Demnach handelt es sich bei der Substanz B um ein Chrysophansäureglykosid.

Die neutralisierte Zuckerlösung ergab bei der papierchromatographischen Untersuchung in den Systemen Pyridin/Äthylacetat/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2) als Zuckeranteil die G l u k o s e . Authentische Zucker lieferten dabei die Testsubstanzen. In beiden Fällen stimmten die R_f-Werte genau überein.

Die Substanz B ist demnach ein Chrysophansäureglukosid.

Quantitative Aglykon- und Zuckerbestimmung

Die Klärung, ob ein Mono- oder Diglykosid vorlag, brachte die quantitative Hydrolyse. Beide Anteile wurden auf spektrophotometrischem Wege bestimmt.

Aus der Vielzahl der beschriebenen spektrophotometrischen Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Anthrachinonen, wählten wir die Methode von SCHRATZ und VETHACKE[61]. Die Meßergebnisse bezogen wir auf die Eichkurve der vorgenannten Autoren. Die Berechnung ergab einen Aglykonanteil von 57.9%, der mit einem Monoglykosid identisch war. Es wurden dafür 58.6% Chrysophansäure berechnet.

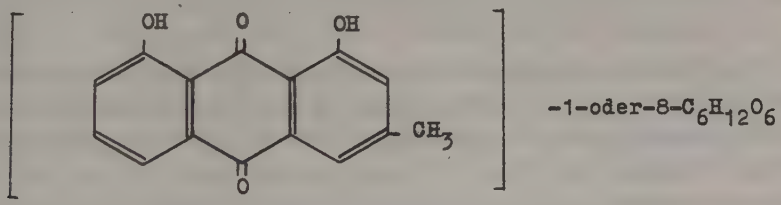
Die Bestimmung des Zuckeranteils fand nach der Anthronmethode statt. Zu diesem Zweck hydrolysierten wir das Glykosid mit Eisessig und benutzten die gelb gefärbte Flüssigkeit als Ausgangslösung. Die Tatsache, daß wir das Hydrolysengemisch in Eisessig direkt mit dem Anthronreagens zur Umsetzung brachten, steht im Gegensatz zu den gebräuchlichen Methoden. Die Anwesenheit von Aglykon stört nicht, da es in dem Meßbereich von 620 mμ keine Eigenabsorption aufweist. Der Eisessig scheint die Reaktion des Zuckers mit dem Anthron nicht zu

61) E.SCHRATZ u. H.J.VETHACKE, Planta medica, 6, 44 (1958)

beeinflussen, da MEYER[62] im Verlauf seiner Arbeiten an Rheinglykosiden nachweisen konnte, daß unter den gewählten Bedingungen die Farbintensitäten dem Lambert-Beer'schen Gesetz folgt. Die Eichkurve einer reinen Glukoselösung zeigte in dem gewählten Konzentrationsbereich von 0.05 - 0.2 mg pro ml Wasser eine Gerade.

Wir verzichteten bei unseren Untersuchungen auf eine Eichkurve um Fehlerquellen, die sich aus einer unterschiedlich langen Abkühlungszeit ergeben können, zu umgehen. Wir bestimmten daher die Zuckerkonzentration, indem wir die Extinktion des Hydrolysengemisches nach dem Versetzen mit Wasser und Anthronreagens auf die Extinktion einer Glukoselösung bekannten Gehalts bezogen. Beide Werte wurden im gleichen Arbeitsgang bestimmt und gegen eine Vergleichslösung, die keinen Zucker enthielt, gemessen. Die Mengenverhältnisse wurden entsprechend den von MEYER[62] beschriebenen Versuchsbedingungen gewählt.

Die Auswertung der Meßergebnisse ergab einen Glukoseanteil von 43.3%. Damit handelt es sich um ein M o n o g l u k o s i d , für das 41.4% Glukose berechnet wurden.



Chrysophansäuremonoglukosid

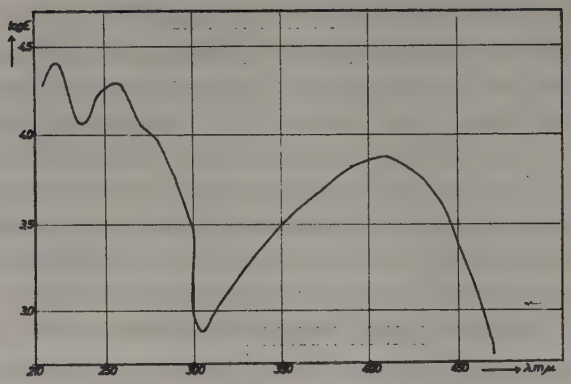
UV- und IR-Spektrum

Das UV-Spektrum zeigt drei Maxima bei 220 mμ (Max.I), 257 mμ (Max.II) und 410 mμ (Max.III). Entsprechend unseren späteren Untersuchungen zeigt sich hier eine weitgehende Übereinstimmung mit dem Spektrum des Aloeemodinglukosids. Beide Substanzen besitzen eine Substitution am C_1, C_3 und C_8 Atom. Im Gegensatz dazu verfügen die Glukoside des Physcions und Rheumemodins über eine weitere Substitution am C_6 Atom. Die Maxima II und III des UV-Spektrums dieser Glykoside liegen langwelliger.

---

62) K.MEYER, Dissertation, München (1961)

Abb. 5



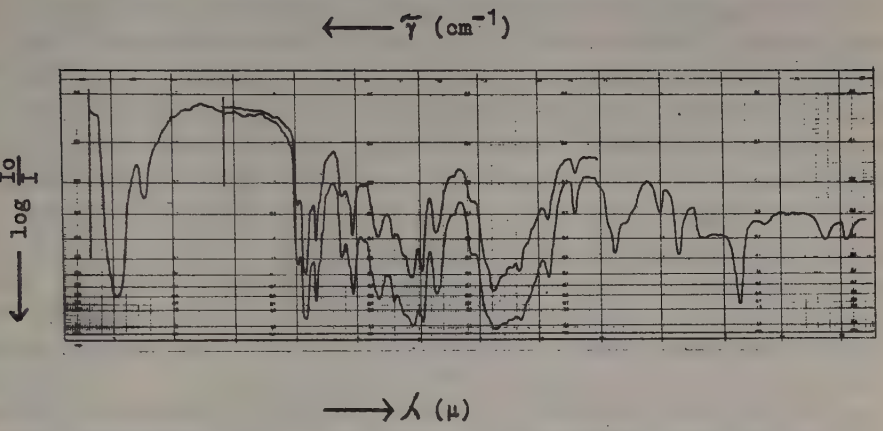
UV-Spektrum des Chrysophansäuremonoglukosids in Methanol p.a.

Die Lage des Maximums III bei 410 mμ läßt auf die Anzahl der freien OH-Gruppen in α-Stellung schließen. Nach Arbeiten von BRIGGS[63] sind Anthrachinone mit einem freien Hydroxyl in α-Stellung durch ein Maximum zwischen 407.5 und 413 mμ gekennzeichnet, wie es hier beim Chrysophansäureglukosid der Fall ist. Dagegen weisen Anthrachinone mit keinem freien Hydroxyl in α-Stellung eine Bande zwischen 356 und 362 mμ auf, während solche mit zwei freien α-ständigen OH-Gruppen ein Maximum zwischen 427 und 432 mμ haben. Hieraus ergibt sich für unser Chrysophansäureglukosid eine Verglukosidierung über eine Hydroxylgruppe am C_1 bzw. C_8. Eine C-C-Verknüpfung scheidet somit aus.

Das IR-Spektrum zeigt als charakteristische Banden C-OH 3256 cm^{-1}, C-CH_3 2857 cm^{-1}, C=O frei 1660 cm^{-1}, C=O cheliert 1623 cm^{-1}. Die C=C-Valenzschwingung tritt bei 1582 cm^{-1} auf, während eine zweite C-O-Schwingung bei 1256 cm^{-1} markant ist.

63) L.H.BRIGGS, G.A.NICHOLLS u. R.M.L. PATERSON, J.chem.Soc.(London) 1718 (1952)

Abb. 6



IR-Spektrum Chrysophansäuremonoglukosid (Glykosid B)

Für die Identifizierung der Substanz sind ferner die Banden im Bereich der "wagging vibrations" (γ-Schwingungen) wichtig, da sie Aussagen über die Substitution am Anthrachinonkern machen. Es lag nahe, einen Vergleich mit den entsprechenden Banden des Aloeemodinglykosids vorzunehmen, da hier der gleiche Substitutionstyp vorliegt.

T a b e l l e 5

Vergleich der wagging-vibrations beim Chrysophansäure- und Aloeemodinglukosid (angegeben in cm^{-1})

Chrysophansäureglykosid	945	889	813	783	752
Aloeemodinglykosid	943	888	840	816	752

Die Auswertung dieser Tabelle zeigt eine fast völlige Übereinstimmung in diesem Schwingungsbereich. Damit ist ein weiterer Beweis dafür erbracht, daß unser Glykosid B ein Chrysophansäureglykosid ist.

C-H-Analyse und Acetylierung

Die C-H-Analyse der Substanz B zeigte zunächst keine gute Übereinstimmung mit den theoretischen Werten eines Chrysophansäuremonoglukosids. Berücksichtigt man jedoch die von MÜHLEMANN[64] beschriebenen Beobachtung, daß diese Substanz hartnäckig 1/2 - 1 Mol Wasser im Kristall zurückhält, so zeigen gefundene und berechnete Werte eine hinreichende Übereinstimmung. Unser Glykosid verliert beim Trocknen in der Trockenpistole und anschließend im Hochvakuum je 1/2 Mol Wasser.

Berechnung und Analyse ergaben folgende Werte:

ber. $C_{21}H_{20}O_9 \cdot 1\ H_2O$ 58.6% C, gef. 58.31%C;

ber. $C_{21}H_{20}O_9 \cdot 1\ H_2O$ 5.02%H, gef. 5.14%H.

Das Acetat, hergestellt nach dem üblichen Verfahren mit Essigsäureanhydrid und Natriumacetat lieferte hellgelbe kurze Kristallnadeln, wenn aus Methanol umkristallisiert wird. Der Schmelzpunkt beträgt 186 - 187°C. Die C-H-Analyse und die Acetylgruppenbestimmung paßten gut auf die für ein Pentaacetat berechneten Werte.

ber. 59.43%C, gef. 59.18%; ber. 4.82 %H, gef. 4.92%H;
ber. 34.85% CO-CH_3, gef. 34.22% CO-CH_3

Das Ergebnis entspricht den Erwartungen und zeigt, daß fünf OH-Gruppen im Glykosid enthalten sein müssen.

Die optische Drehung des Acetats wurde in Aceton gemessen und ergab als spez. Drehwinkel $[\alpha]_D^{20} = -91.61°$.

Das von uns isolierte Chrysophansäuremonoglukosid wurde erstmalig von GILSON[65] aus dem Rhabarberrhizom dargestellt. Er gab der Substanz den Namen "Chrysophanein" und bestimmte dessen Schmelzpunkt mit 248 - 249°C. Außerdem bewies er, daß ein Monoglykosid vorlag. TAKAHASHI[66] und MÜHLEMANN[64] bestätigten dieses Ergebnis durch die Synthese. Neben dem reinen Glukosid wird von beiden Autoren noch das Tetraacetat beschrieben. BELLAART[67] versuchte das Problem der

64) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helv., 24, 315 (1949)
65) E.GILSON, Arch.intern.Pharmacodynam.Therap., 14, 453 (1905)
66) R.TAKAHASHI, J.pharmac.Soc.Japan, 525, 969 (1925)
67) A.C.BELLAART, Pharmaz.Weekbl., 97, 105 (1962)

Zuckerstellung zu lösen, indem er das synthetische Glukosid methylierte und nach der Hydrolyse den Schmelzpunkt des partiell methylierten Aglykons bestimmte. Dieser ist identisch mit dem 8-Hydroxy-1-methyläther der Chrysophansäure, den STOLL und BECKER[68] mit 198 - 200°C angeben. Damit läge ein 8-Glukosid vor. Das Ergebnis ist jedoch nicht ganz beweiskräftig, da der Schmelzpunkt des entsprechenden 1-Hydroxy-8-methyläthers, den NAYLOR[69] synthetisierte, mit 202 - 204°C nur um 4°C höher liegt.

Unsere Untersuchungen bestätigten zunächst die Ergebnisse von GILSON[70], TAKAHASHI[71] und MÜHLEMANN[72]. Der Schmelzpunkt von 247 - 249°C ist mit den Angaben der Literatur identisch. Die Hydrolyse liefert Chrysophansäure und Glukose als Spaltprodukte. Die quantitative Bestimmung von Aglykon und Zucker zeigt, daß ein Monoglukosid vorliegt. Neu ist die Darstellung des Pentaacetats, womit die fünf freien OH-Gruppen im Molekül nachgewiesen werden. UV- sowie IR-Spektrum des Chrysophansäure Monoglykosids waren bisher nocht nicht bekannt. Aus der Lage ihrer Banden ließen sich Aussagen über die Substitution am Anthrachinonkern und die Art der Verglukosidierung machen. Es bleibt somit lediglich die Frage nach der Zuckerstellung offen, da die Untersuchungen von BELLAART[73] nicht beweiskräftig genug sind. Die Klärung dieses Problems ist zur Zeit Gegenstand einer weiteren Arbeit. Zunächst soll das Chrysophansäureglukosid durch Oxydation in das Aloeemodinglukosid überführt werden. Für den Fall, daß das Oxydationsprodukt mit dem Glukosid des Aloeemodins identisch ist, kann die Frage nach der Zuckerstellung für beide Substanzen gemeinsam durch eine weitere Oxydation zum Rheinglukosid und anschließende Methylierung desselben gelöst werden. Die isomeren Rheinmonomethyläther zeigen nämlich eine erhebliche Schmelzpunktsdifferenz und lassen damit ein eindeutiges Ergebnis erwarten.

---

68) A.STOLL u. B.BECKER, Rec.Trav.Chim.Pays-Bas, 69, 558 (1950)
69) CH.A.NAYLOR jr. u. J.H.GARDNER, J.americ.chem.Soc., 53, 4117(1931)
70) E.GILSON, Arch.intern.Pharmacodynam.Therap., 14, 453 (1905)
71) R.TAKAHASHI, J.pharmac.Soc.Japan, 525, 969 (1925)
72) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helv., 24, 315 (1949)
73) A.C.BELLAART, Pharmaz.Weekbl., 97, 105 (1962)

Identifizierung des Glykosids D

Das Glykosid D ist eine gelborange gefärbte Substanz. Sie kristallisiert aus Methanol unter Zusatz von wenig Säure in derben kurzen Kristallen aus (siehe Abb. 7). Der Schmelzpunkt beträgt 189 - 190°C. Das Glykosid wird von Wasser, Aceton, Methanol, Äthanol und Äthylacetat gut gelöst, während es in Benzol, Äther und Petroläther unlöslich ist.

Abb. 7

Glykosid D = Rheumemodinmonglukosid
20fache Vergrößerung

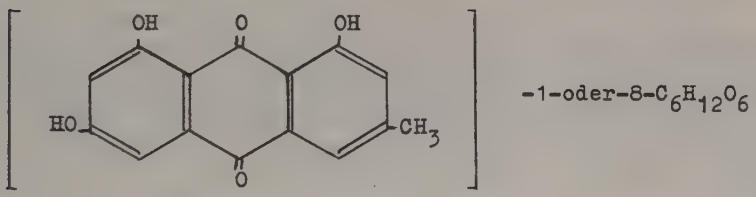
Bei der S ä u r e h y d r o l y s e fällt das Aglykon als gelbbraun gefärbter Niederschlag aus, der nach mehrfacher Sublimation einen Schmelzpunkt von 253 - 255°C hatte. Er entspricht nach den Angaben der Literatur dem Rheumemodin, welches zwischen 254 - 256°C schmilzt. Der papierchromatographische Nachweis mit authentischer Testsubstanz ergab das gleiche Ergebnis. R_f-Wert und Fluoreszenz im UV-Licht zeigten die Identität mit Rheumemodin.

Den Zucker bestimmten wir papierchromatographisch in den Systemen Pyridin/Äthylacetat/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2). Anhand von Testsubstanzen stellten wir als Zuckeranteil die Glukose fest, da in beiden Laufmitteln die R_f-Werte völlig übereinstimmten. Damit ist die Substanz D ein R h e u m e m o d i n - g l u k o s i d .

Die q u a n t i t a t i v e H y d r o l y s e und spektrophotometrische Bestimmung des Anthrachinonanteils ergab für das Aglykon 58.3%, während der für ein Monoglukosid berechnete Wert 60% beträgt.

Die Zuckerbestimmung ergab einen Glukoseanteil von 42.1%. Demgegenüber beläuft sich die theoretische Berechnung beim Monoglukosid auf 40.0%.

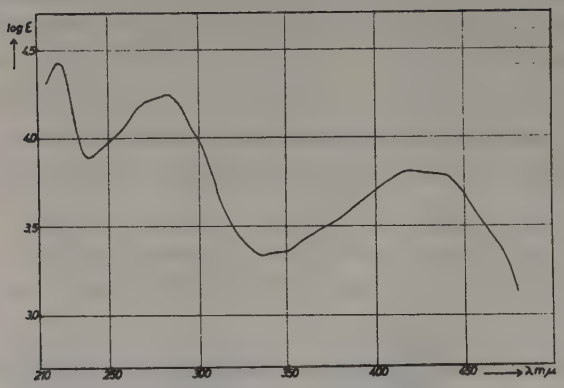
Die gefundenen Werte liegen im Bereich der Fehlergrenze und zeigen deutlich, daß im Glykosid D Aglykon und Zucker im molaren Verhältnis 1:1 vorliegen.



Rheumemodinmonoglukosid

Das UV - S p e k t r u m zeigt drei ausgeprägte Maxima bei 222 mμ (Max.I), 283 mμ (Max.II) und 420 mμ (Max.III).

Abb. 8



UV-Spektrum des Rheumemodinmonoglukosids in Methanol p.a.

Gegenüber den Spektren des Chrysophansäure- und Aloeemodinglykosids ist hier ein deutlicher Unterschied sichtbar. Die Maxima II und III sind um 30 mμ bzw. 10 mμ in den langwelligen Bereich verschoben. Dies ist mit der Substitution am C_1, C_3, C_6 und C_8 in Übereinstimmung.

Damit müßte das Spektrum eine große Identität mit dem des Physcionglykosids aufweisen, dessen Aglykon der 6-Monomethyläther des Rheumemodin ist. Dies trifft für das Maximum III zu, nicht jedoch für Maximum II. Das Physcionglykosid zeigt auch hier eine Verschiebung in den langwelligen Bereich, doch ist diese bei weitem nicht so stark wie bei unserer Substanz D.

Die Erklärung dürfte in dem starken Einfluß einer weiteren chromophoren OH-Gruppe liegen. Zum Vergleich ist die Lage der Maxima bei den vier genannten Glykosiden in der nachfolgenden Tabelle veranschaulicht. (siehe Tabelle 6, S.29).

Tabelle 6

Übersicht über die Lage der Maxima im UV-Licht bei den einzelnen Glukosiden in Methanol p.a. (Wellenlängen in mμ)

	Max. I	Max. II	Max. III
Chrysophansäuremonoglukosid	222	257	410
Aloeemodinmonoglukosid	223	255	410
Rheumemodinmonoglukosid	222	283	420
Physcionmonoglukosid	223	270	420

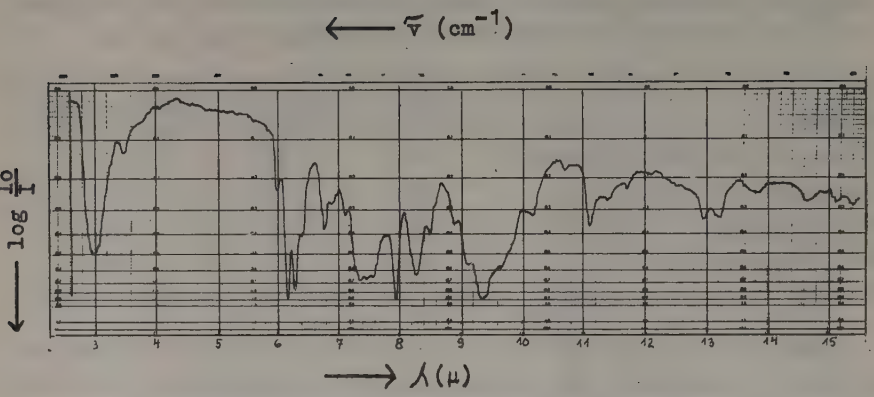
Über die Stellung des Zuckers im Glukosid D gibt die Lage des Maximums III Hinweise. Die Verknüpfung am C_6 Atom würde nach BRIGGS[74] die Bande III zwischen 427 und 432 mμ erfordern, da zwei freie α-ständige Hydroxyle vorhanden sind. Mit einer Wellenlänge von 420 mμ liegt es jedoch ebenso nahe dem für eine freie α-ständige OH-Gruppe geforderten Bereich von 407 - 415 mμ. Da jedoch beim Physcionglukosid mit gleichem Substitutionstyp das gleiche Maximum auftritt, dürfte die Verschiebung in den langwelligeren Bereich durch die Art der Substitution am Anthrachinonkern zu erklären sein.

Das IR-Spektrum des Rheumemodinglukosids weist als charakteristische Banden auf: C-OH 3333 cm^{-1}, C-CH_3(CH_2) 2873 cm^{-1}, C=O frei 1666 cm^{-1}, C=O cheliert 1623 cm^{-1}. Die C=C-Schwingung tritt bei 1587 cm^{-1} auf, während eine weitere C-O-Bande bei 1275 cm^{-1} liegt. (siehe Abb. 9, S. 30).

Betrachtet man die Banden im Bereich der "wagging vibrations", so bietet sich hier ein Vergleich mit dem Physcionglukosid an. Beide Substanzen sind am C_1, C_3, C_6 und C_8 substituiert. Ihre Banden müßten demnach weitgehende Übereinstimmung aufweisen. Daneben liegt es nahe, die IR-Spektren des Aloeemodinglukosids und Chrysophansäureglukosids zum Vergleich heranzuziehen, die infolge ihrer Substitution am C_1, C_3 und C_6 einen anderen Anthrachinontyp darstellen. Es ist zu erwarten, daß in der Lage der Banden ein deutlicher Unterschied zu der erstgenannten Gruppe zu erkennen ist.

74) L.H.BRIGGS, G.A.NICHOLLS u. R.M.L.PATERSON, J.chem.Soc.(London) 1718 (1952)

Abb. 9



IR-Spektrum des Rheumemodinmonoglukosids

Tabelle 7

Übersicht über die Banden im Bereich der "wagging vibrations" bei den verschiedenen Anthrachinonglukosiden (gemessen in cm^{-1})

Rheumemodinglukosid	984	936	900	867	853	771	753
Physcionglukosid	965	922	892	860	826	769	754
Chrysophansäureglukosid	-	945	898	833	813	783	752
Aloeemodinglukosid	-	943	888	840	816	784	752

Wie aus der Tabelle hervorgeht, ist die Übereinstimmung in der Bandenfolge bei den ersten Glykosiden nicht so groß wie erwartet. Der Grund dürfte in dem Ersatz einer OH-Gruppe durch eine Methoxylgruppe zu suchen sein, der eine erhebliche Veränderung im Molekül darstellt und dementsprechend auch im IR-Spektrum zum Ausdruck kommt. Der Unterschied zwischen den Banden der einzelnen Substitutionstypen fällt jedoch ins Auge.

SCHULTZ und MAYER[75] isolierten in jüngster Zeit ein Rheumemodinglukosid aus den Blättern von Rheum undulatum. Ein Vergleich mit dem IR-Spektrum dieser Substanz zeigt völlige Übereinstimmung.

75) O.E.SCHULTZ u. G.MAYER, Arzneimittel-Forsch., 6, 334 (1956)

Die C - H - A n a l y s e der Substanz liefert befriedigende Werte, wenn auch hier ein Restgehalt an Kristallwasser der Berechnung zugrunde gelegt werden muß. Die Analyse weist einen unverbrennbaren Rückstand von 0.052 mg auf, der auch durch vielfaches Umkristallisieren aus angesäuertem Methanol nicht zu entfernen war. Es liegt somit ein Teil der Substanz vermutlich als Alkalisalz vor. Dafür spricht auch die intensive Farbe der Lösung und ihre rotorange Fluoreszenz. Die berechneten und gefundenen C-H-Werte sind nachfolgend aufgeführt.

ber. $C_{21}H_{20}O_{10} \cdot 1/2\ H_2O$ 57.14%C, gef. 57.43%C;

ber. $C_{21}H_{20}O_{10} \cdot 1/2\ H_2O$ 4.79%H, gef. 4.90%H

Die Acetylierung auf dem Dampfbad nach der herkömmlichen Methode liefert nach dem Umkristallisieren aus Methanol hellgelbe Kristalle. Das Acetat beginnt bei 190°C zu sintern, um nach erneutem Durchkristallisieren bei 204 - 206°C zu schmelzen. Die Verbrennungsanalyse und die prozentuale Bestimmung der Acetylgruppen liefert die für ein Hexaacetat berechneten Werte.

ber. 57.88%C, gef. 57.73%C; ber. 4.71%H, gef. 4.90%H;

ber. 37.71%CO-CH_3, gef. 38.02%CO-CH_3

Das Ergebnis entspricht den für unser Glykosid zu erwartenden sechs freien OH-Gruppen.

MÜHLEMANN[76] synthetisierte zwei verschiedene Rheumemodinmonoglukoside, die sich durch die Art ihrer Verglukosidierung unterscheiden. Beim einen handelt es sich um ein 6-Glukosid, während im anderen Fall ein 1- oder 8-Glukosid vorliegt. Das 1- bzw. 8-Glukosid dürfte mit unserer Substanz D identisch sein. Sein Schmelzpunkt wird mit 183.5 - 185°C beschrieben. Nach Angaben von MÜHLEMANN[76] war das Glukosid jedoch noch verunreinigt. Das Hexaacetat schmilzt zwischen 203 und 205°C, beginnt jedoch schon bei tieferer Temperatur zu sintern. Die Identifizierung des von SCHULTZ[77] isolierten Rheumemodinmonoglukosids beschränkt sich auf die qualitative und quantitative Hydrolyse.

---

76) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helv., 24, 315 (1949)

77) O.E.SCHULTZ u.G.MAYER, Arzneimittel-Forsch., 6, 334 (1956)

Außerdem wird ein IR-Spektrum abgebildet, während Angaben über den Schmelzpunkt, das Acetat sowie das UV-Spektrum fehlen.

Der Schmelzpunkt des von uns isolierten Glukosids wurde mit 189 - 190°C bestimmt. Die Differenz von 5°C zu dem von MÜHLEMANN[78] angegebenen Wert ist durch die von ihm beschriebene Verunreinigung zu erklären. Dagegen decken sich Schmelzpunkte und Schmelzpunktseigenschaften der Hexaacetate völlig.

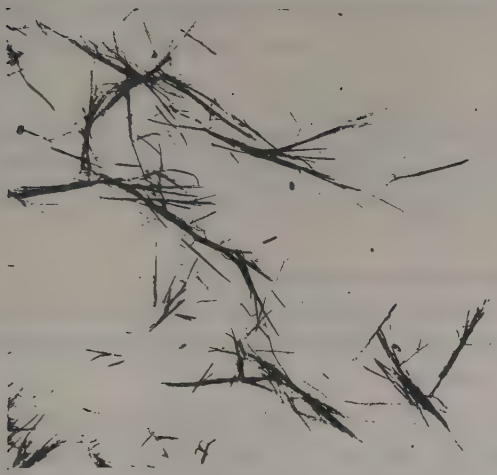
Der Vergleich des IR-Spektrums mit der von SCHULTZ[79] angegebenen Absorptionskurve zeigt eine völlige Übereinstimmung der Banden. Die von uns bestimmte UV-Kurve ist neu. Sie läßt durch die Lage der langwelligen Bande auf eine Verglukosidierung an einem α-Hydroxyl des Aglykons schließen. Die endgültige Klärung der Glukosestellung muß jedoch auch hier weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben. Sie soll über die Methylierung des Glykosids erfolgen. Das nach der Hydrolyse erhaltene methylierte Aglykon soll dann mit partiell methyliertem Rheumemodin verglichen werden, wobei die Frage nach der Stellung der verbleibenden freien Hydroxylgruppe durch den Alkaliabbau geklärt werden soll.

Identifizierung des Glykosids C

Das gelb befärbte Glykosid C kristallisiert aus Methanol in kurzen feinen Nadeln (siehe Abb. 10, S. 33). Die Substanz schmilzt bei 234 - 235°C unter Zersetzung. In Wasser, Alkohol, Äthylacetat und Aceton ist das Glykosid in rohem Zustand gut löslich. Diese Eigenschaft nimmt mit zunehmender Reinheit stark ab, eine Tatsache, die für alle isolierten Glykoside beobachtet werden konnte. In hydrophoben Lösungsmitteln, wie Chloroform und Benzol, ist das Glykosid C absolut unlöslich.

78) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helv., 24, 315 (1949)
79) O.E.SCHULTZ u.G.MAYER, Arzneimittel-Forsch., 6, 334 (1956)

Abb. 10



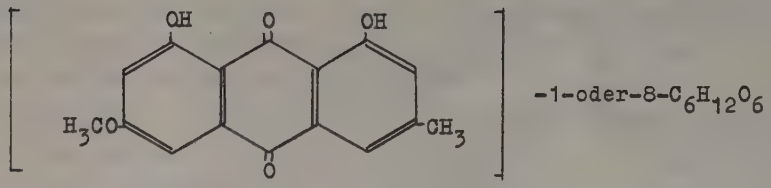
Physcionmonoglukosid (Glykosid C) 10fache Vergrößerung

Nach der S ä u r e h y d r o l y s e im wässrigen Medium fällt das Aglykon amorph aus. Es zeigt nach mehrfacher Sublimation einen Schmelzpunkt von 204°C. Demnach handelt es sich um den 6-Methyläther des Rheumemodins, der den Namen P h y s c i o n führt. Ein Mischschmelzpunkt mit authentischer Substanz und Dünnschichtchromatographie auf Polyamid führte zum gleichen Ergebnis.

Die Zuckerbestimmung erfolgte papierchromatographisch in den Systemen Pyridin/Äthylacetat/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2). Anhand von Testsubstanzen identifizierten wir den Zuckeranteil als G l u k o s e . Die R_f-Werte zeigten in beiden Fließmitteln hinreichende Übereinstimmung. Unsere Substanz C ist demnach ein Physcionglukosid.

Nach der q u a n t i t a t i v e n Hydrolyse wurde das molare Verhältnis von Aglykon zu Zucker auf spektrophotometrischem Wege bestimmt. Die Methode wurde bereits früher auf Seite 20 beschrieben. Die Bestimmung des Physcions ergab einen Aglykonanteil von 63.2%. Die theoretische Berechnung für ein Monoglukosid beträgt 61.3%. Für

die Glukose wurde ein Gehalt von 40.3% ermittelt, während der berechnete Wert von 38.7% für ein P h y s c i o n m o n o g l u k o s i d gilt.



Physcionmonoglukosid

Zur weiteren Identifizierung haben wir authentisches Physcionmonoglukosid herangezogen, daß im Rahmen unserer Team-arbeit von IMRE[80] dargestellt wurde.

Das U V - S p e k t r u m zeigt Absorptionsmaxima bei 220 mμ (Max.I), 270 mμ (Max.II) und 420 mμ (Max.III). Die Lage dieser Banden zeigt eine völlige Übereinstimmung mit dem synthetischen Glykosid, während sie in den speziellen Extinktionskoeffizienten geringfügig differieren. Der Unterschied ist durch eine geringe Verunreinigung des isolierten Glykosids zu erklären.

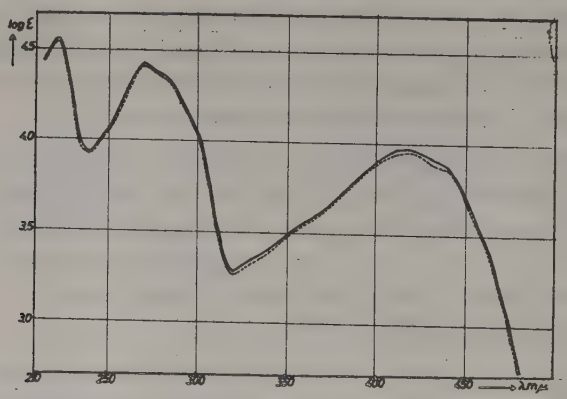


Abb. 11

UV-Spektrum der Physcionglukoside in Methanol p.a.

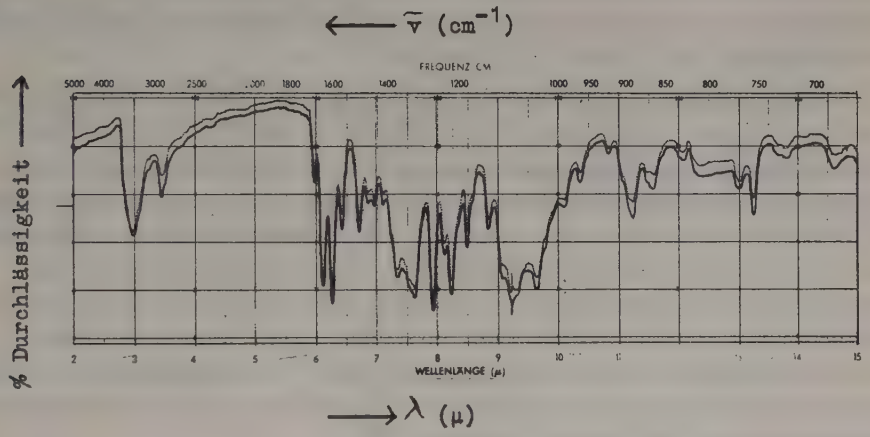
——— synthetisches Physcionmonoglukosid
----- isoliertes Physcionmonoglukosid

80) S.IMRE, Dissertation (München) in Vorbereitung.
Wir danken Herrn Imre für die Überlassung der Substanzen.

Wie wir bereits beim Rheumemodinglukosid erwähnten, weist das Maximum II eine Glykosiverknüpfung am C_1 oder C_8 hin. Dabei dürfte die geringfügige Verschiebung in den langwelligen Bereich durch den Substitutionstyp zu erklären sein.

Das I R - Ü b e r l a g e r u n g s s p e k t r u m weist eine völlige Übereinstimmung auf und zeigt als charakteristische Banden C-OH 3289 cm^{-1}, C-CH_3 2873 cm^{-1}, C=O frei 1688 cm^{-1}, C=O chelliert 1623 cm^{-1}, C=C 1600 cm^{-1} und C-O- 1259 cm^{-1}.

Abb. 12



IR-Überlagerungsspektrum der Physcionmonoglukoside

····· synthetisches Physcionmonoglukosid

——— isoliertes Physcionmonoglukosid

Der Verlauf der Spektren im Bereich der "wagging vibrations" wurde bereits beim Glukosid D diskutiert. Dabei konnte eine gewisse Übereinstimmung des Glykosids C und D nachgewiesen werden, da beide über dieselbe C_1, C_3, C_6 und C_8 Substitution verfügen.

Die C - H - A n a l y s e zeigte als Ergebnis (ber. 59.19%C, gef. 59.85%C; ber. 4.96%H, gef. 5,37%H). Das Physcionmonoglukosid kristallisiert in feinen Nadeln aus, die sehr dicht aneinander

hängen und damit ein sehr voluminöses Kristallisat bilden. Infolgedessen wird die Hauptmenge des Lösungsmittels und damit die Verunreinigung aus dem Isolierungsgang eingeschlossen, dessen Entfernung dann praktisch unmöglich ist.

Die A c e t y l i e r u n g des Glykosids wurde nach der üblichen Methode durchgeführt. Die Kristallisation machte große Schwierigkeiten. Aus Methanol konnte nur ein Gel erhalten werden, während aus Benzol lange, fadenförmige Kristalle zur Abscheidung kamen, deren Schmelzpunkt 169 - 170°C betrug. Aus anderen Lösungsmitteln erfolgte keine Kristallisation. Das aus Benzol erhaltene Acetat ist jedoch derartig voluminös, daß eine genügende Reinigung nicht möglich war. Das zeigt sich vor allen Dingen bei der Verbrennungsanalyse und der Acetylgruppenbestimmung. Beide Untersuchungen deuten auf ein Pentaacetat hin.

Die Literatur bietet nur wenig Anhaltspunkte zum Vergleich mit unserem isolierten Physcion-Monoglukosid. GILSON[81] isolierte bei seinen Arbeiten an Rhabarberextrakten ein Glukosid, das neben einer Methylgruppe noch eine Methoxygruppe enthielt. Er stellte fest, daß es sich um ein Monoglukosid handelte und bestimmte den Schmelzpunkt mit 205°C. Später gewann HOLMSTROEM[82] eine ähnliche Substanz mit einem Schmelzpunkt von 211°C. In beiden Fällen handelte es sich offenbar um ein Physcionmonoglukosid. Da bisher nicht mehr über diese Substanz bekannt war, verglukosidierte IMRE[83] im Rahmen unserer Teamarbeit das Physcion mit der Glukose und lieferte so die notwendigen Vergleichswerte für unsere Substanz C.

Im Mischschmelzpunkt mit synthetischem Glykosid erfolgte keine Depression. Der von uns gefundene Schmelzpunkt liegt mit 237°C wesentlich höher als die Angaben der Literatur[81)82)]. Der Unterschied ist wohl dadurch zu erklären, daß die von GILSON[81] und HOLMSTROEM[82] isolierten Substanzen mit Chrysophansäureglukosid verunreinigt waren, wodurch eine Schmelzpunktsdepression zustande kam. Eine Trennung dieser beiden Glykoside war damals mit den herkömmlichen Methoden noch nicht möglich. Die Acetylierung unseres synthetischen und isolierten Glukosids lieferte kein eindeutiges Ergebnis. In beiden Fällen waren

81) E.GILSON, Arch.intern.Pharmacodynam.Therap., 14, 453 (1905)
82) H.HOLMSTROEM, Schweiz.Apotheker-Ztg., 59, 160 (1921)
83) S.IMRE, Dissertation (München), in Vorbereitung

nur äußerst voluminöse, fast gelartige Kristallformen zu erhalten, die eine Entfernung der Verunreinigungen unmöglich machten. Die quantitativen UV-Spektren stimmen völlig überein. Nach der Lage der langwelligen Bande liegt ein 1- oder 8-Glukosid vor. Das IR-Überlagerungsspektrum weist keinen Unterschied auf. Offen bleibt lediglich die Klärung der Zuckerstellung. Sie soll zusammen mit dem Rheumemodinglukosid im Rahmen einer weiteren Arbeit vorgenommen werden. Das Physcionglukosid wird zu diesem Zweck zunächst methyliert, das Aglykon anschließend durch Hydrolyse abgespalten und dann mit partiell methyliertem Rheumemodin verglichen. Die Stellung der verbleibenden freien OH-Gruppe soll dann durch den Alkaliabbau geklärt werden.

Identifizierung des Glykosids A

Das Glykosid A bildet bei der Kristallisation aus Methanol lange spitze Nadeln von intensiv gelber Farbe aus, die bei 238 - 239°C unter Zersetzung schmelzen (siehe Abb. 13).

In Wasser, Methanol, Äthanol und Aceton ist die Substanz gut löslich. Chloroform, Benzol und Äther vermögen dagegen das Glykosid nicht mehr in Lösung zu bringen.

Abb. 13

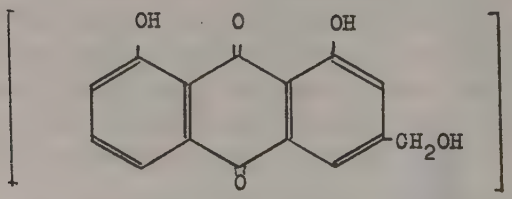
Aloeemodinmonoglukosid (Glykosid A) 10fache Vergrößerung

Die S ä u r e h y d r o l y s e liefert ein Aglykon, das nach mehrmaliger Sublimation scharf bei 223 - 224°C schmolz und hierin mit authentischem 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethylanthrachinon (Aloeemodin) übereinstimmte. Im Mischschmelzpunkt mit Aloeemodin trat keine Depression ein.

Die Identifizierung des Zuckeranteils erfolgte auf papierchromatographischem Wege. Wir chromatographierten in den Systemen Pyridin/Äthylacetat/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2) und konnten einwandrei Glukoside nachweisen. Damit ist unser Glykosid ein Aloeemodinglukosid.

Nach der Hydrolyse wurde sowohl Aglukon- als auch Zuckeranteil q u a n t i t a t i v auf spektrophotometrischem Wege (siehe S.20) bestimmt. Der Anteil des Aloeemodins im Glukosid A betrug 60% und stimmte mit dem berechneten Wert (theor. 60%) genau überein.

Für die Glukose wurde ein Gehalt von 41.26% ermittelt, während der theoretische Wert für ein Monoglukosid 40% beträgt. Damit ist erwiesen, daß Glykosid A als Aloeemodin m o n o g l u k o s i d vorliegt.



-1-oder-8-$C_6H_{12}O_6$

Aloeemodinmonoglukosid

Die C-H-Analyse zeigte eine gute Übereinstimmung mit dem für ein Aloeemodinmonoglukosid berechneten Werten, wenn man voraussetzt, daß vom Glukosid ca. 1/2 Mol Kristallwasser zurückgehalten werden. Diese Annahmen stehen im Einklang mit Beobachtungen, die MÜHLEMANN[84] bei der C-H-Bestimmung eines synthetischen Chrysophansäureglukosids gemacht hatte. Er gibt für das Glukosid 1/2 - 1 Mol Kristallwasser an, welches das Glukosid trotz intensivster Trocknung beibehält. Es ist denkbar, daß es im Hochvakuum die gesamte Wassermenge verliert, jedoch scheint das Glykosid infolge starker Hygroskopizität bei der

84) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helv., 24, 325 (1949)

Auswaage wiederum Wasser aus der Luft aufzunehmen. Eigene Befunde deuten ebenfalls in diese Richtung. So verlor Aloeemodinmonoglukosid, das bereits in der Trockenpistole zur Gewichtskonstante getrocknet wurde, im Hochvakuum bei 120°C etwas mehr als 1/3 Mol Wasser. Legen wir der Berechnung einen Kristallwassergehalt von 1/2 Mol Wasser zugrunde, so kommen wir zu nachfolgendem Ergebnis:

ber. $C_{21}H_{20}O_{10} \cdot 1/2\ H_2O$ 57.14%C, gef. 57.44%C;

ber. $C_{21}H_{20}O_{10} \cdot 1/2\ H_2O$ 4.79%H, gef. 5.00%H

Außer einer kurzen Mitteilung von CRELLIN[85], der aus den Sennesblättern ebenfalls ein Aloeemodinmonoglukosid isolierte, findet man in der Literatur keine weiteren Angaben über ein derartiges Glykosid. Da keine genauen Daten existieren, synthetisierten wir ein Aloeemodinglukosid, um auf diese Weise die Konstitution unserer Substanz zu sichern.

Synthese eines Aloeemodinmonoglukosids

In der Literatur findet man eine Reihe von Dihydroxyanthrachinonglykosiden, die auf synthetischem Wege gewonnen wurden. Dabei handelt es sich um folgende Verbindungen: Alizaringlukosid[86], Chrysophansäureglukosid[86)87], Chrysazinglukosid[86], Frangulaemodinglukosid[86)87], Rubiadinglukosid[88], Rubertrinsäure[89], Aloin[90], Sennosid A und B[91]. Die Fortsetzung dieser Arbeiten bildete die Synthese des Physcionglukosids durch IMRE[92], die im Rahmen unserer Teamarbeit durchgeführt wurde.

---

85) J.K.CRELLIN, J.W.FAIRBAIRN, C.A.FRIEDMANN u. H.A.RYAN, Letters to the Editor, 639 (1961)
86) R.TAKAHSHI, J.pharmac.Soc.Japan, 525, 4 (1925)
87) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helvetiae, 24, 315 (1949)
88) E.TH.JONES u. A.ROBERTSON, J.chem.Soc.(London), 1699 (1930)
89) G.ZEMPLEN u. R.BOGNAR, Ber.dtsch.chem.Ges., 72, 913 (1939)
90) H.MÜHLEMANN, Pharmac.Acta Helvetiae, 27, 17 (1952)
91) A.STOLL, B.BECKER u. A.HELFENSTEIN, Helv.chim.Acta, 33, 313 (1950)
92) S.IMRE, Dissertation, München, in Vorbereitung

Verlauf der Arbeiten

Darstellung des Aloeemodins

Ausgangsprodukt der Synthese ist Aloeemodin, das wir aus dem Aloin durch oxydative Spaltung erhielten. Das Handelsprodukt Aloin, der Britischen Pharmakopoe*), war zunächst noch sehr unrein. Durch mehrfaches Umkristallisieren aus Methanol erhielten wir eine Substanz, die nach Schmelzpunkt und Chromatogramm einen ausreichenden Reinheitsgrad aufwies. Die Darstellung von Aloeemodin aus dem Aloin erfolgt nach CAHN und SIMONSEN[93] durch oxydative Spaltung mit Eisen-III-chlorid. Das Verfahren bildet auch die Grundlage der quantitativen Aloinbestimmung nach AUTERHOFF[94], bei der im Gegensatz zu CAHN[93], der in rein wässrigem Medium die hydrolytische Spaltung durchführt, in einer Methanol/Aceton-Mischung gearbeitet wird. Hier liegen die Temperaturen wesentlich niedriger und die Reaktionszeit beträgt nur die Hälfte der dort angegebenen.

Wir führten die Darstellung des Aloeemodins nach einem Verfahren durch, daß sich an die quantitative Bestimmungsmethode von AUTERHOFF[94] anlehnt. Die zur Reaktion gebrachten Mengen entsprachen denen des quantitativen Verfahrens. Nach der Spaltung des Aloins im Aceton/Wassergemisch mit Hilfe von Eisen-III-chlorid wurde das Lösungsmittel abgedampft und das rohe Aloeemodin mit Benzol aus dem Rückstand extrahiert. Verunreinigungen wurden mit Salzsäure und später mit Wasser aus dem Benzol ausgeschüttelt. Nach dem Einengen des Benzols fiel das Aloeemodin in kristalliner Form aus. Die Ausbeute, die dieses Verfahren liefert, lag zwar weit unter dem von CAHN[93] angegebenen, doch war das erhaltene Produkt so rein, daß bereits das zweite Umkristallisieren aus Methanol analysen- und schmelzpunktsreines Aloeemodin lieferte. Der Schmelzpunkt entsprach mit 223 - 224°C den Angaben von TSCHIRCH,[95] OESTERLE[96] und MITTER[97], womit nur einige Autoren genannt sein sollen. Die Werte der C-H-Analyse deckten sich mit denen der Theorie.

---

93) R.S.CAHN u. J.L.SIMONSEN, J.chem.Soc.(London), 2573 (1932)
94) H.AUTERHOFF u. B.BALL, Arzneimittel-Forsch., 4, 725 (1954)
95) A.TSCHIRCH u. G.PEDERSEN, Arch.Pharmaz., 236, 200 (1898)
96) O.A.OESTERLE, Arch.Pharmaz., 249, 445 (1911)
97) P.C.MITTER u. D.BANERJEE, J.Indian chem.Soc., 9, 375 (1932)
*) Aloinum B.P., der Fa. Synochem, Berlin-Charlottenburg

Einen weiteren Beweis für die Identität des Aloeemodins lieferte die Acetylierung, die nach der klassischen Methode mit Essigsäureanhydrid/Natriumacetat durchgeführt wurde. C-H- und Acetylgruppenbestimmungen wiesen das gelbgrüne kristalline Produkt als Triacetat aus. Der Schmelzpunkt von 175 - 177°C war mit dem der Literatur[98] identisch.

Darstellung eines Aloeemodinglukosidhexaacetates

Zur Darstellung von Glykosiden kommt vor allen Dingen das Verfahren von FISCHER[99] in Betracht. Es arbeitet im wasserfreien Medium unter Verwendung von Acetobromzuckern und Silberoxyd bzw. Silberkarbonat. Andere Autoren kuppeln Aglykon und Zucker mit Salzsäure[100], p-Toluolsulfonsäure[101], Kationenaustauschern[102] oder Fermenten[103] als Katalysatoren.

Wir wählten für unsere Synthese das Verfahren von TAKAHASHI[104] in einer Abwandlung von SIN-ICHIRO FUJISE u. SEKIO MITUI[105]. Das Verfahren wurde auch von IMRE[106] bei der Synthese des Physcionmonoglukosids mit Erfolg angewendet. Wir brachten Aloeemodin in Chinolin gelöst mit einer Acetobromglukoselösung in Benzol unter Verwendung von Silberoxyd als Katalysator zur Reaktion. Das Tetraacetylprodukt der Kupplung kristallin zu fassen war nicht möglich. Dünnschichtchromatographisch konnte kein Aloeemodin mehr nachgewiesen werden. Dafür war ein intensiv orange fluoreszierender Fleck in Höhe des isolierten Glykosids zu beobachten, der von zwei schwach blau fluoreszierenden Zonen begleitet war. Amt Startpunkt blieb bei den gewählten Bedingungen ein dunkelbrauner Fleck zurück.

---

98) M.UCHIBAYASHI u. T.MATSUOKA, Chem.pharmac.Bull.Tokio, 9, 234 (1961)
99) E.FISCHER u. E.F.ARMSTRONG, Ber.dtsch.chem.Ges., 34, 2885 (1901)
100) E.FISCHER, Ber.dtsch.chem.Ges., 28, 1145, 1151 (1895)
101) B.HELFERICH u. SCHMITZ-HILLEBERECHT, Ber.dtsch.chem.Ges., 66, 378 (1933)
102) I.E.CADOTTE, F.SMITH u. D.SPRIESTERBACH, J.Amer.chem.Soc., 74, 1501 (1952)
103) J.BOURQUELOT u. Mitarbeiter, Ann.Chimie, 3, 287 (1915), 4, 310 (1915), 7, 153 (1917)
104) R.TAKAHASHI, J.pharmac.Soc.Japan, 525, 969 (1925)
105) SIN-ICHIRO FUJISE u. SEKIO MITUI, Ber.dtsch.chem.Ges., 71, 912 (1938)
106) S.IMRE, Dissertation München, in Vorbereitung

Um zu einem kristallinen Produkt zu kommen, acetylierten wir den getrockneten Rückstand auf die herkömmliche Methode. Wir erhielten aus Methanol unter tropfenweisem Zusatz von Eisessig ein gelbgrün gefärbtes, kristallines Acetat. Es zeigte einen Schmelzpunkt von 204 - 205°C. Die C-H- und Acetylbestimmungen wiesen die Substanz als ein Hexaacetat aus. (C ber. 57.92, C gef. 57.52; H ber. 4.71, H gef. 4.60; CO-CH_3 ber. 37.73, CO-CH_3 gef. 37.45). Die Ausbeute betrag 15%. Die spezifische Drehung gemessen in Aceton betrug $[\alpha]_D^{20}$ = -58.89°. Eine Acetylierung des Kupplungsproduktes mit Pyridin/Essigsäureanhydrid führt zu dem gleichen Ergebnis.

Synthetisches Aloeemodinmonoglukosid

Die Gewinnung des reinen Glukosids aus dem Acetat erfolgte durch Verseifen mit methanolischer Natronlauge nach JONES und ROBERTSON[107]. Da die Glykoside nach eigenen Erfahrungen sowie den Untersuchungen von GARDNER und Mitarbeitern[108] leicht unter Aufspaltung in Zucker und Aglykon reagieren, mußten wir bei der Verseifung sehr vorsichtig verfahren. Voruntersuchungen im Hinblick auf die Dauer der Reaktion und die Konzentration der Lauge wurden dünnschichtchromatographisch verfolgt. Dabei zeigte sich, daß ein Erhitzen von fünf Minuten mit einer 1%igen methanolischen Natronlauge auf dem Wasserbad zur völligen Verseifung führte, ohne daß nebenbei noch Aglykon gebildet wurde. Die Neutralisation erfolgte mit Eisessig.

Alle Versuche aus dem Reaktionsgemisch direkt das Glykosid in kristalliner Form zu erhalten, blieben ohne Erfolg. Wir verdünnten die glukosidhaltige Methanollösung reichlich mit Wasser, säuerten mit einem Tropfen Salzsäure schwach an und extrahierten anschließend das Glukosid erschöpfend mit Äthylacetat. Letzteres wurde dann abgedampft, der goldgelbe Rückstand mit heißem Methanol aufgenommen und das Glykosid beim Erkalten zur Kristallisation gebracht. Mehrfaches Umkristallisieren aus dem gleichen Lösungsmittel führte zu einem analysenreinen Aloeemodinglukosid. Sein Schmelzpunkt betrug 238°C und zeigte in Mischung mit dem isolierten Glykosid keinerlei Depression. Die Verbrennungsanalyse ergab mit den berechneten Werten eine gute Übereinstimmung (C ber. 58.32, C gef. 58.64; H ber. 4.65, H gef. 4.85). Die Ausbeute der Verseifung betrug 50.7%.

---

107) E.TH.JONES u. A.ROBERTSON, J.chem.Soc.(London), 1699 (1930)
108) J.H.GARDNER, TH.F.Mc.DONNEL u. C.J.W.WIEGAND, J.Amer.chem.Soc., 57, 1074 (1935)

Die Hydrolyse des synthetischen Aloeemodinglukosids entfiel, da diese bereits mit der isolierten Substanz durchgeführt wurde und den eindeutigen Beweis für das Vorliegen eines Monoglukosids geliefert hatte.

Herstellung eines Aloeemodinglukosidpentaacetates

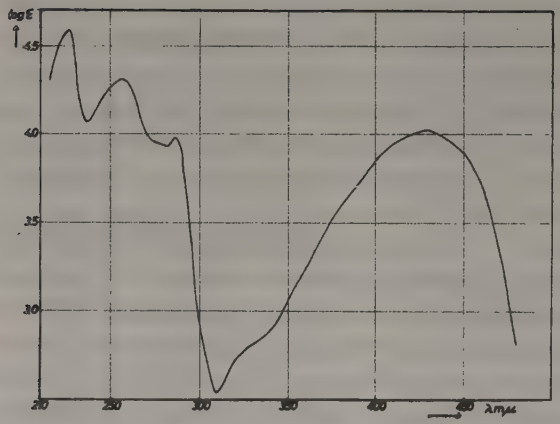
Der Vollständigkeit halber führten wir eine nochmalige Acetylierung des synthetischen sowie des isolierten Glukosids durch. Nach der herkömmlichen Methode mit Essigsäureanhydrid/Natriumacetat erhielten wir in beiden Fällen gelbgrüne Kristalle, die in Nadelbüscheln zusammenlagen. Ihr Schmelzpunkt wurde mit 187°C festgestellt. Mischschmelzpunkte mit dem Acetat des isolierten Glukosids zeigten keinerlei Depression. Die Verbrennungsanalyse sowie die Acetylgruppenbestimmung führten zu dem Ergebnis, daß aus beiden Glykosiden ein P e n t a - a c e t a t entstanden war. Die spezifische Drehung des Acetats aus dem synthetischen Glukosid in Aceton wurde mit $[\alpha]_D^{20} = -9{,}61°$ bestimmt. Infolge Substanzmangels mußte bei dem isolierten Produkt auf eine Bestimmung der Drehung verzichtet werden. Die Frage, warum aus den Glukosiden bei der Acetylierung statt eines zu erwartenden Hexaacetates nur ein Pentaacetat entsteht, ist mit einer sterischen Behinderung zu erklären. Bei der Acetylierung des Kupplungsproduktes tritt diese Behinderung nicht auf, da die vier Hydroxylgruppen der Glukose bereits mit Essigsäure verestert sind. Jedenfalls blieben alle Versuche ergebnislos, mit anderen Acetylierungsverfahren ein Hexaacetat zu gewinnen.

UV-spektrophotometrische Untersuchungen

Im Verlauf der Synthese wurden die wichtigsten Substanzen, das Aloeemodin sowie dessen Glukoside im UV-Spektrum untersucht.

Das Ausgangsprodukt der Kupplung, das Aloeemodin (siehe Abb. 14) weist im kurzwelligen Bereich drei charakteristische Banden bei 226 mμ (Max.I), 255 mμ (Max.II) und 287 mμ (Max.III) auf. Sie sind in ihrer Intensität recht unterschiedlich. Im langen Wellenbereich tritt noch ein weiteres Maximum bei 430 mμ (Max.IV) auf.

Abb. 14



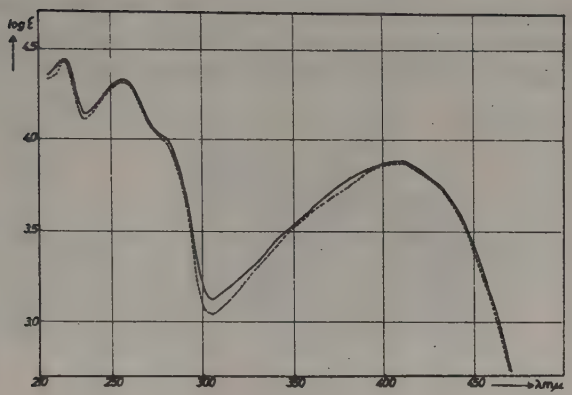
UV-Spektrum des Aloeemodins in Methanol p.a.

Wie die Abb. 14 zeigt, deckt sich die Lage der Banden im wesentlichen mit den Angaben von AWE[110], bis auf das Maximum bei 226 mμ, das von dem Autor nicht angegeben wird. Nach unseren Messungen ist die Bande III außerdem um 2 mμ in den langwelligen Berreich verschoben. Dieser geringe Unterschied dürfte durch Meßfehler oder Gerätedifferenz zu erklären sein.

Das synthetische wie das isolierte Aloeemodinglukosid (siehe Abb. 15) sind charakterisiert durch zwei kurzwellige Banden bei 223 mμ (Max.I) und 255 mμ (Max.II), während im langwelligen Bereich nur eine Bande bei 410 mμ zu beobachten ist.

110) W.AWE u. H.J.KÜMMEL, Arch.pharmaz., 293, 271 (1960)

Abb. 15



UV-Spektrum des synthetischen und isolierten Aloeemodinmonoglukosids

——— synthetisches Aloeemodinmonoglukosid
----- isoliertes Aloeemodinmonoglukosid

Die Abb. 15 zeigt, daß der Verlauf beider Kurven im gesamten Meßbereich übereinstimmt.

Vergleicht man nun die Lage der Banden beim Glukosid und Aglykon, so fällt zunächst ins Auge, daß dem Glukosid im kurzwelligen Bereich die Bande bei 287 mμ fehlt. Die zwei anderen Maxima liegen jedoch gleich (255 mμ) oder doch fast gleich (223 mμ bzw. 226 mμ). Die hypsochrome Verschiebung der langwelligen Bande beim Glukosid um 20 mμ war jedoch zu erwarten. Die Lage dieser Bande charakterisiert nach BRIGGS[111] die Anzahl der freien α-ständigen OH-Gruppen. Zwei freie Hydroxyle weisen ein Maximum zwischen 427 und 432 mμ auf, wie es hier beim Aglykon der Fall ist. Nach der Verglukosidierung tritt nun die gleiche Bande bei 410 mμ auf, in einem Bereich, der nach vorgenannten Autoren nur ein freies α-Hydroxyl kennzeichnet.

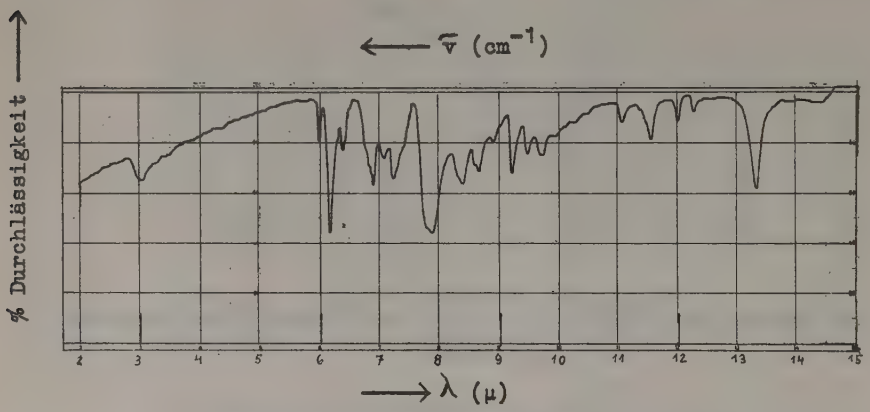
---

111) L.H.BRIGGS, G.A.NICHOLLS u. R.M.L.PATERSON, J.chem.Soc.(London), 1718 (1952)

IR-spektrophotometrische Untersuchungen

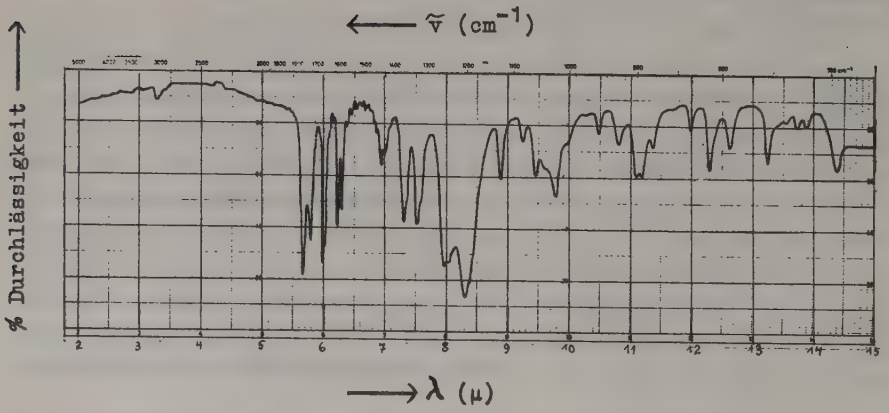
Die einzelnen Stufen der Synthese wurden im IR-Spektrum verfolgt. Da die IR-Spektren des Aloeemodins und seines Triacetats, sowie die des Aloeemodinmonoglukosids und seiner Acetate bisher nicht bekannt waren, werden sie nachfolgend abgebildet.

Abb. 16



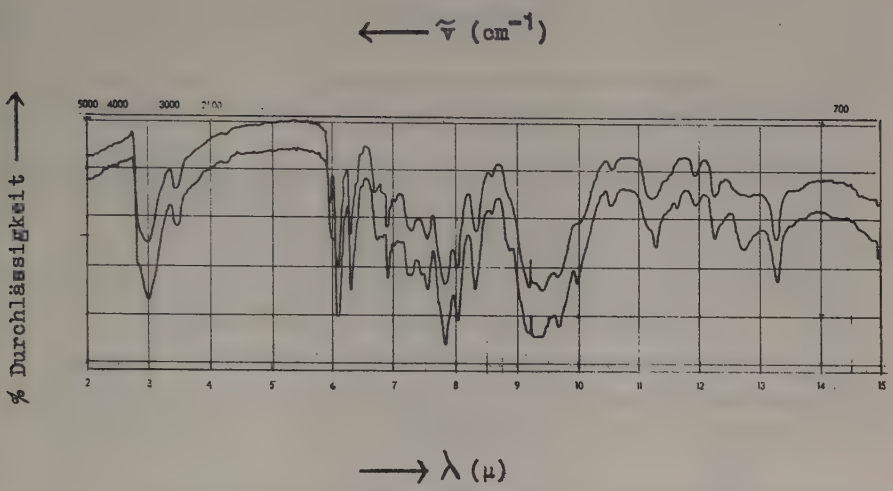
IR-Spektrum des Aloeemodins

Abb. 17



IR-Spektrum des Aloeemodintriacetates

Abb. 18

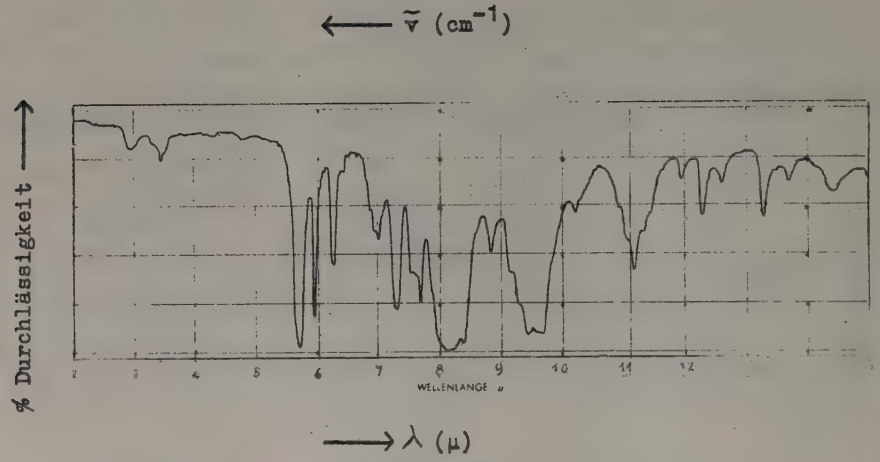


IR-Überlagerungsspektrum des synthetischen und isolierten Aloeemodin-monoglukosids

Wie das Überlagerungsspektrum zeigt, stimmen die Banden des synthetischen und des isolierten Aloeemodinmonoglukosids völlig überein. Das Spektrum zeigt folgende charakteristische Banden:

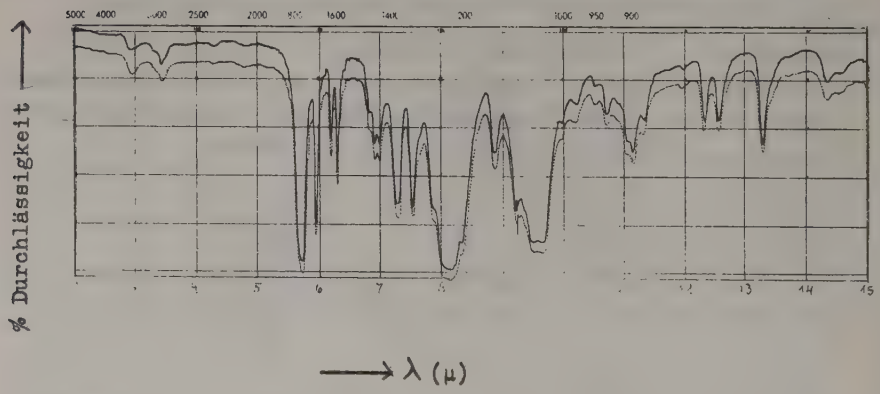
C-OH 3333 cm^{-1}, C-CH_3(C-CH_2-) 2898 cm^{-1}, C=O frei 1688 cm^{-1}, C=O cheliert 1639 cm^{-1}, C=C 1587 cm^{-1}. Die C-O-Valenzschwingung fanden wir bei einer Frequenz von 1282 cm^{-1}. Diese Werte gelten für das isolierte wie für das synthetische Glukosid.

Abb. 19



IR-Spektrum des Aloeemodinglukosidhexaacetates

Abb. 20



IR-Überlagerungsspektrum der Pentaacetate des isolierten und synthetischen Aloeemodinmonoglukosids

——— Pentaacetat des isolierten Aloeemodinmonoglukosids

----- Pentaacetat des synthetischen Aloeemodinmonoglukosids

Wie wir bereits früher berichteten, fielen im Verlauf der Synthese ein Pentaacetat sowie ein Hexaacetat des Aloeemodinglukosids an. Die Unterschiede zwischen den beiden Acetaten kommen im IR-Spektrum in den nachfolgend aufgeführten Frequenzbereichen zum Ausdruck: 1466 - 1428 cm^{-1}, 1333 - 1250 cm^{-1} und 748 - 689 cm^{-1}.

Papierchromatographische Untersuchungen von Rhizoma Rhei verschiedener Herkunft und deren Zubereitungen

Durch unsere chromatographischen Untersuchungen sowie die nachfolgenden Isolierungsarbeiten waren wir in der Lage, genaue Angaben über die Inhaltsstoffe der Rhabarberdrogen zu machen.

Das DAB 6 läßt als offizinelle Droge nur Rheum palmatum var. tanguticum zu. Bekanntlich neigt aber die Gattung Rheum sehr stark zu Bastardierungen, so daß eine anatomische Identifizierung der Rhizome nahezu unmöglich ist.

Arbeiten von SCHRATZ[112)] machen daher auf Grund ihrer Untersuchungen im Hinblick auf Morphologie und Inhaltsstoffe den Vorschlag, die Gattung Rheum entsprechend ihrer chemischen Unterschiede in eine Sectio palmata und eine Sectio rhapontica zu unterteilen:

Zur Sectio palmata sind u.a. Rheum palmatum var.tanguticum und Rheum officinale zu zählen, während der zweiten Gruppe z.B. Rheum undulatum und Rheum rhaponticum angehören. Während erstere den gesamten von uns beschriebenen Anthrachinonkomplex enthält, wird er bei letzterer nur unvollständig und in wechselnder Zusammensetzung aufgefunden. Weit wichtiger ist jedoch die Tatsache, daß die Sectio rhapontica in erheblicher Menge Rhaponthicin enthält, dem als Stilbenderivat eine beträchtliche östrogene Wirkung zugeschrieben wird.

Dem Nachweis des Glykosidkomplexes und vor allem des Rhaponticins galten unsere Untersuchungen.

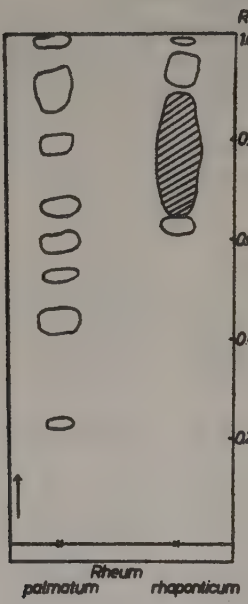
Zu diesem Zweck chromatographierten wir methanolische Auszüge verschiedener Handelsdrogen im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3). Die Anthrachinone treten in den bereits beschriebenen Zonen auf, während das Rhaponticin als intensiv blau fluoreszierender Fleck im UV-Licht zu sehen war. Drogen der Sectio rhapontica zeigten neben

---

112) E.SCHRATZ, Planta medica, 8, 301 (1960)

dem Gehalt an Rhaponticin nur einen sehr geringen Anteil von Anthrachinonglykosiden (siehe Abb. 21). Bei der von uns geprüften Handelsware handelte es sich jedoch fast ausschließlich um Rhabarber, welcher der Sectio palmata entstammte.

Abb. 21



Papierchromatographische Auftrennung methanolischer Auszüge von Rhizoma Rhei der Sectio Palmata und Rhapontica im UV-Licht

Laufmittel: n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3)
aufsteigend

Neben der reinen Droge kamen auch Zubereitungen des Deutschen Arzneibuches 6. Ausgabe zur Untersuchung. Es handelt sich dabei um Tinctura Rhei aquosa und Tinctura Rhei vinosa. Frisch hergestellte Zubereitungen, Tinkturen des Großhandels und solche aus verschiedenen Apotheken wurden miteinander verglichen und auf ihren Rhaponticingehalt untersucht. Dabei zeigte sich, daß ein nicht unbeträchtlicher Prozentsatz der im Handel befindlichen Tinkturen rhaponticinhaltig ist. Bei quantitativem Auftragen wiesen die zu untersuchenden Auszüge große Unterschiede im Anthrachinongehalt auf. Das machte sich durch die unterschiedlich starke Fluoreszenz der einzelnen Flecken sowie deren Größe deutlich bemerkbar. Eine Abnahme des Anthrachinongehalts über einen Zeitraum von zwei Jahren konnte nicht beobachtet werden, während eine mindestens 10 Jahre alte Tinctura Rhei aquosae praktisch keine Anthrachinonbestandteile mehr aufwies.

Bei der chromatographischen Untersuchung der Tinctura Rhei vinosa traten infolge des hohen Zuckergehaltes zunächst Schwierigkeiten auf. Durch das Ausschütteln der Tinktur mit Äthylacetat und nachfolgende Chromatographie der organischen Phase gelang es uns, diese Schwierigkeit zu umgehen. Es sei jedoch darauf verwiesen, daß die Glykoside mit niedrigem R_f-Wert in dem hydrophoben Äthylacetat unlöslich sind und somit dem Nachweis entgehen. Das Rhaponticin wird jedoch erfaßt.

Experimenteller Teil

A. Allgemeine Arbeitsvorschriften

1. Papierchromatographie

Die Papierchromatographie erfolgte auf ungewaschenem Papier Nr. 2043 b Gl der Fa. Schleicher u. Schüll, Dassel. Zur Verwendung kamen folgende Fließmittel:

1.)	n-Propanol/Äthylacetat/Wasser	4:3:3	(PÄW)
2.)	Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol	4:1:1:2	(PTXM)
3.)	Äthylacetat/Pyridin/Wasser	7:2:1	(ÄPW)
4.)	sek.Butanol/Eisessig/Wasser	5:3:2	(sek.BEW)
5.)	Butanol/Eisessig/Wasser	4:1:5	(BEW)

Die Chromatographie im System 1 und 2 erfolgte aufsteigend bis zu einer Höhe von 24 cm in dickwandigen runden Gläsern von 27 cm Höhe, einem Durchmesser von 15 cm und plangeschliffenem Rand. Die Laufzeit für PÄW beträgt 4 - 5 Stunden, für PTXM 2 1/2 - 3 Stunden.

In den Systemen 3, 4 und 5 wurde nach der absteigenden Methode über eine Entfernung von 45 cm chromatographiert. Die Chromatographierkammern der Fa. Bender und Hobein, München, hatten die Ausmaße 20 x 30 x 60 cm.

Zur Identifizierung im UV-Licht kam eine Lampe der Fa. Philips mit einem Maximum bei 366 mμ zur Anwendung.

Das System 1 diente zur Auftrennung von Anthrachinonglykosiden, Gesamtextrakten, sowie Zubereitungen des Deutschen Arzneibuches 6. Ausgabe. Die Identifizierung erfolgte unbesprüht oder nach Besprühen mit einer 1%igen methanolischen Magnesiumacetatlösung im UV-Licht.

Im Laufmittel 2 wurden die freien Anthrachinone chromatographiert. Sie wurden unbesprüht im UV-Licht oder nach Behandlung mit einer 2%igen methanolischen Kalilauge im Tageslicht betrachtet.

Zur Identifizierung der Zucker verwendeten wir die Systeme 3 und 4. Die Identifizierung erfolgte im Tageslicht nach dem Besprühen mit einer ammoniakalischen Silbernitratlösung nach

LINSKENS[113] folgender Zusammensetzung: 0.85 g Silbernitrat, 24 ml Ammoniak 25%ig, 75 ml Wasser und 4.0 g Natriumhydroxyd in rotulis. Das Chromatogramm wurde über dem Dampftopf entwickelt und mit 5%iger Natriumthiosulfatlösung fixiert.

Im System 5 fand die chromatographische Untersuchung des Aloins statt, welches durch Besprühen mit 5%iger methanolischer Kalilauge unter dem UV-Licht identifiziert wurde.

2. Dünnschichtchromatographie

a) Herstellung der Platten

Als Adsorptionsmittel kam ein Polyamid zur Anwendung, das nach einem in unserem Institut[114] entwickelten Verfahren für diesen Zweck präpariert wurde. Als Ausgangsmaterial benutzten wir 150.0 g grobkörnige Perlon der Fa. Bayer, Durethan BK 31 F. Dieses wurde auf dem Dampfbad in 500 ml konzentrierter Salzsäure gelöst, 200 ml Methanol zugegeben und das Polyamid langsam unter Wasserzusatz und ständigem Umrühren ausgefällt. Der Niederschlag mußte mehrmals mit Leitungswasser und später mit destilliertem Wasser gewaschen werden. Er wurde anschließend auf einer Filternutsche gesammelt, nochmals auf die beschriebene Weise umgefällt und in wenig Wasser suspendiert aufbewahrt. Zur Chromatographie befreiten wir 15.0 g der Suspension auf einer Filternutsche vom Wasser durch Nachwaschen mit Methanol. Das Perlon wurde durch scharfes Absaugen getrocknet und in 45 ml Äthylacetat suspendiert, dem noch 0.3% Subitogen 2N, der Farbwerke Hoechst zugesetzt worden war. Die Suspension wurde durch ein Sieb von 1 mm Maschenweite auf 6 - 8 Platten aus Spiegelglas (Größe 12 x 20 cm) gegossen und durch Neigen das Polyamid zu einer gleichmäßigen Schicht von jeweils 1.9 - 2.5 g Gewicht verteilt. Diese trocknete in wenigen Minuten an der Luft.

b) Fließmittelsysteme

Bei der Dünnschichtchromatographie arbeiteten wir mit folgenden Laufmittelsystemen:

113) H.F.LINSKENS, Papierchromatographie in der Botanik (1955) S.60 Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg
114) H.RÖSLER, Dissertation, München (1959)

1.) Methanol/Wasser 6:4
2.) Methanol/Benzol 95:5

60%iges Methanol diente zur Untersuchung der Säulenfraktionen, zur Identifizierung und Reinheitsprüfung der Glukoside und zur chromatographischen Untersuchung der Glukosidkupplung. Die Laufzeit betrug ca. 50 Minuten.

Für die Auftrennung des Physcions und der Chrysophansäure benutzten wir das 2. System. Dabei belief sich die Laufzeit auf ca. 30 Minuten.

Die Identifizierung erfolgte in beiden Fällen unbesprüht im UV-Licht.

3. Schmelzpunkte

Die Schmelzpunkte wurden nach Thiele im Schwefelsäure- bzw. Paraffinbad bestimmt. Sie sind unkorrigiert. Die Schmelzpunktsbestimmung der Aglykone aus der Hydrolyse erfolgte nach Kofler in der Mikroschmelzpunktsapparatur.

4. Mikroanalysen

Die C-H-Analysen sowie die Bestimmung der Acetylgruppen wurden von der Fa. A.Bernhardt, Mülheim/Ruhr, durchgeführt. Die Trocknung der Substanzen erfolgte bei 90°/HV bzw. 120°/HV.

5. Qualitative Hydrolysen

Zur qualitativen Hydrolyse versetzten wir jeweils 1 ml einer konzentrierten Säulenfraktion oder ca. 5 mg Substanz mit 5 ml 5%iger Salzsäure und kochten das Gemisch 20 Minuten am Rückflußkühler auf der Heizplatte.

Zur Chromatographie der Aglykone extrahierten wir das Hydrolysengemisch mit Äther, wuschen diesen mit Wasser säurefrei und brachten die eingeengten Ätherlösungen zur Chromatographie.

Zur präparativen Gewinnung der Aglykone wurde die salzsaure Lösung nach der Hydrolyse mit 5 ml Wasser verdünnt und mehrere Stunden in den Eisschrank gestellt. Das ausgeflockte Anthrachinon sammelten wir auf einem Hirsch-Trichter und reinigten es nach dem Trocknen durch mehrfaches Sublimieren auf dem

Mikroschmelzpunktsapparat nach Kofler.

Die vom Aglykon befreiten wässrigen Zuckerlösungen neutralisierten wir jeweils mit 0.8 - 1.0 g Silberoxyd, saugten das ausgefallene Silberchlorid ab und brachten die Lösung nach dem Einengen auf ca. 1 ml zur Chromatographie.

6. Quantitative spektrophotometrische Bestimmung der Aglykone

Ca. 2 mg Glukosid wurden genau gewogen und nach dem bereits beschriebenen Verfahren hydrolysiert. In einem kleinen Schütteltrichter verdünnten wir das Hydrolysengemisch mit 10 ml Wasser und schüttelten das freie Anthrachinon quantitativ mit Äther aus, wozu etwa 30 ml erforderlich sind. Nachdem der Äther säurefrei gewaschen war, brachten wir das Aglykon durch zweimaliges Ausschütteln mit je 10 ml 5%iger Natronlauge in die alkalische Phase zurück. Diese wurde in einem Meßkolben mit Methanol auf 100 ml aufgefüllt und gegen eine Vergleichslösung, die 20 ml 5%ige Natronlauge und 80 ml Methanol enthielt, gemessen. Die Messung erfolgte im Eppendorf-Photometer unter Verwendung von monochromatischem Licht (Quecksilberdampflampe, Filter 546 mμ) in Küvetten von 1 cm Schichtdicke. Den Gehalt ermittelten wir nach den von SCHRATZ und VETHACKE[115] aufgestellten Eichkurven, deren Werte nachfolgend aufgeführt sind.

Tabelle 8

	Einwaage in mg/100 ml	0.5	1.0	1.5	2.0
E	Aloeemodin	0.090	0.170	0.260	0.350
	Chrysophansäure	0.115	0.220	0.330	0.440
	Physcion	0.070	0.155	0.222	0.300
	Rheumemodin	0.136	0.278	0.414	0.545

7. Quantitative spektrophotometrische Bestimmung der Glukone

Eine genau gewogene Menge Glukosid, ca. 2 mg, wurden mit 5 ml Eisessig 60 Minuten auf der Heizplatte am Rückfluß hydrolysiert und in einem 10 ml Meßkolben mit Eisessig aufgefüllt.

115) E.SCHRATZ u. H.J.VETHACKE, Planta medica, 6, 44 (1958)

1 ml dieser Lösung wurde mit 1 ml Wasser und 4 ml Anthronreagenz (0.2% Anthronlösung in konzentrierter Schwefelsäure p.a.) versetzt und nach dem Erkalten gegen eine Vergleichslösung aus 1 ml Eisessig, 1 ml Wasser und 4 ml Anthronreagenz gemessen. Die Messung erfolgte im Zeiß-Opton-Spektralphotometer MQ 4 bei einer Wellenlänge von 620 mμ und einer Schichtdicke von 1 cm.

Den Gehalt ermittelten wir durch die gleichzeitige Bestimmung eines Bezugswertes. Wir lösten daher 10.01 mg Glukose ($C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$) = 9.1 mg Glukose wasserfrei in 100 ml Wasser. 1 ml dieser Glukoselösung (91 γ) versetzten wir mit 1 ml Eisessig sowie 4 ml Anthronreagenz und bestimmten die Extinktion dieses Gemisches im gleichen Arbeitsgang mit der Glukose aus der Hydrolyse. Die Bezugslösung zeigte jeweils eine Extinktion von 0.7.

Die Werte einer Eichkurve, die nach der vorhergehend beschriebenen Methode von MEYER[116] aufgestellt wurde, sind in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt.

T a b e l l e 9

Einwaage γ/ml	45.5	91.0	136.65	182.1
Extinktion	0.32	0.7	1.05	1.43

8. Acetylierungen

Zur Acetylierung versetzten wir die Substanz mit der gleichen Menge frisch geschmolzenen, wasserfreien Natriumacetats und der 10fachen Menge Essigsäureanhydrid. Bei Substanzmengen, die unter 200 mg lagen, wurde mit 2 ml Essigsäureanhydrid gearbeitet. Erhitzt wurde eine Stunde auf dem Dampfbad. Das Acetylierungsgemisch wurde nun auf Eiswasser gegossen, 8 - 10 Stunden stehen gelassen, der Niederschlag auf einem Hirsch-Trichter gesammelt und mit Wasser säurefrei gewaschen. Nach der Trocknung lösten wir das Acetat in wenig heißem Methanol, reinigten es mit einer Messerspitze Aktivkohle und kristallisierten es aus dem erkaltenden Lösungsmittel. Zur Reinigung wurde die Kristallisation mehrfach wiederholt.

116) K.MEYER, Dissertation, München (1961)

9. Bestimmung der optischen Drehung

Die Messung der optischen Drehung der Acetate wurde im Polarimeter der Fa. Schmidt und Haenel, Berlin, vorgenommen. Als Lichtquelle diente eine Natriumdampflampe. Wir lösten jeweils 30 - 40 mg Acetat in 5 ml Aceton und führten die Messung bei einer Rohrlänge von 0.5 dm durch. Es wurden jeweils zehn Bestimmungen durchgeführt und daraus ein Mittelwert bestimmt. Die Berechnung des spezifischen Drehwinkels $[\alpha]_D^{20}$ erfolgte nach der Formel:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{100 \cdot \alpha}{c \cdot l}$$

α = gemessene Drehung
c = 0.6 - 0.8
l = 0.5

10. Messung der UV-Spektren

Die Messung der UV-Spektren erfolgte jeweils im Zeiß-Opton-Spektralphotometer MQ 4 II. Die Schichtdicke der Quarzküvetten betrug 1 cm. Die Absorptionskurven sämtlicher Substanzen wurden in methanolischer Lösung bei einer Konzentration zwischen $2.2 \cdot 10^{-5}$ und $5.6 \cdot 10^{-5}$ Mol/l gemessen.

11. Messung der IR-Spektren

Die IR-Spektren ließen wir im Max-Planck-Institut für Biochemie München, im organisch-chemischen Institut der Universität München sowie bei der Fa. Thomae, Biberach, anfertigen. Sämtliche Spektren wurden als KBr-Preßlinge bei einer Einwaage von jeweils 700 - 1000 γ/300 mg KBr gemessen.

B. Gewinnung der Glukoside

1. Herstellung des Drogenauszuges

Zur Bereitung eines Konzentrats, welches vornehmlich die Hauptglukoside enthält, extrahierten wir 500 g einer Handelsdroge Rhizoma Rhei pulvis der Fa. H. Unfried, München, zweimal mit je 1.5 l Äthylacetat erschöpfend im Soxhlet, wozu 6 Tage erforderlich waren. Den Auszug ließen wir einige Tage stehen, filtrierten vom ausgeschiedenen Gerbstoff ab, dampften im Vakuum zur Trockene ein und nahmen den Rückstand von ca. 10 g

mit 100 ml 30%igem Methanol unter Erwärmen auf.

2. Isolierung der Glukoside auf der Polyamidsäule

Die Auftrennung der Glukoside erfolgte auf einer Polyamidsäule von 80 cm Länge, 6.5 cm Durchmesser und 45 cm Füllhöhe. Als Adsorptionsmaterial verwendeten wir Ultramid K 228 BM 2 der Fa. BASF, Ludwigshafen, das bereits 24 Stunden vorher mit 30%igem Methanol angeschlämmt wurde.

Den noch warmen Drogenauszug brachten wir mit einer Pipette auf die Säule, wobei darauf geachtet wurde, daß möglichst kein Perlon aufwirbelte. Nach dem Einsinken der überstehenden Flüssigkeit bildete der Extrakt auf der Säule eine 5 cm breite Zone, die wir zunächst mit 30%igem Methanol eluierten. Die Abtropfgeschwindigkeit betrug 30 - 40 Tropfen pro Minute. Die ablaufende Flüssigkeit wurde in Fraktionen zu je 500 ml unterteilt.

Den Verlauf der Trennung verfolgten wir im UV-Licht. Dabei wurde das Auftreten einzelner Zonen festgestellt. Die beiden ersten fluoreszierten blau bzw. türkis und wurden verworfen, während die vier folgenden eine orange Fluoreszenz aufwiesen. Die Farbe der ablaufenden Fraktionen im Tageslicht wechselte zwischen hellgelb und dunkelgelb. Nach dem Abtropfen einer jeden Zone wurde die Alkoholkonzentration erhöht, bis zum Schluß in reinem Methanol gearbeitet wurde. Die Identifizierung der einzelnen Fraktionen erfolgte dünnschichtchromatographisch. Sie brachte als Ergebnis vier chromatographisch reine Substanzen in folgenden Fraktionen: Substanz A (40% Methanol) Fraktion 5 - 10; Substanz B (50% Methanol) Fraktion 13 - 26; Substanz C (60% Methanol) Fraktion 30 - 41; Substanz D (70% bzw. reines Methanol) Fraktion 45 - 59. Bei den dazwischen liegenden Fraktionen handelte es sich um Gemische der jeweils auf der Säule beieinander liegenden Glukoside, die in entsprechender Weise über eine zweite Säule getrennt werden konnten. Nachfolgende Tabelle veranschaulicht den Gang der Trennung auf der Säule.

Tabelle 10

Auftrennung eines "Rheum"-Auszuges auf der Polyamidsäule

Fraktion	Elutionsmittel	Fluoreszenz im UV-Licht	Substanz
1	Methanol 30%	blau	a) unbekannte Substanz
2	Methanol 30%	blau-grün	Mischfraktion a u. b
3-5	Methanol 40%	türkis	b) unbekannte Substanz
5-10	Methanol 40%	orange	A
11-12	Methanol 40%	orange	A u. B
13-26	Methanol 50%	orange	B
27-29	Methanol 60%	orange	B u. C
30-41	Methanol 60%	hellorange	C
42-44	Methanol 70%	orange	C u. D
45-50	Methanol 70%	rotorange	D
51-59	Methanol rein	rotorange	D

Die zusammengehörigen Fraktionen wurde vereinigt und auf dem Wasserbad bei 60°C unter vermindertem Druck zur Trockne eingedampft. Die Rückstände lösten wir in reinem Methanol. Beim Erkalten schieden sich die Glukoside in kristalliner Form ab. Die Lösung der Substanz D säuerten wir mit 2 - 3 Tropfen Eisessig an und beließen sie bis zur Kristallisation mehrere Tage im Kühlschrank.

3. Reinigung der Glukoside

Die Reinigung der Glukoside A, B und C erfolgte durch drei- bis viermaliges Umkristallisieren aus Methanol. Dabei nahm die Löslichkeit mit steigendem Reinheitsgrad stark ab. Das galt besonders für Substanz B und C, die nach genügender Reinigung nur noch im Verhältnis 1:2000 in Methanol löslich waren.

Das Glukosid D machte beim Umkristallisieren Schwierigkeiten. Es ist selbst schlecht kristallisierbar. Zudem war es stark mit Perlon verunreinigt, das bei der langandauernden Elution der Säule in Lösung gegangen war. Durch einfaches Umkristallisieren war der Begleitstoff nicht zu entfernen. Das Rohprodukt

wurde daher 4mal einige Tage mit je 200 ml n-Butanol in der Kälte digeriert, wobei die Hauptmenge des Polyamids zurückblieb. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels brachten wir den Rückstand aus Methanol p.a. unter Zusatz von 2 - 3 Tropfen Eisessig im Kühlschrank zur Kristallisation. Die Ausbeuten der einzelnen Glukoside nach der Reinigung betrugen: Substanz A 145 mg, 0.029%; Substanz B 560 mg, 0.112%; Substanz C 225 mg, 0.045%; Substanz C 310 mg, 0.062%.

C. Spezielle chromatographische Untersuchungen

1. Säulenchromatographische Auftrennung eines methanolischen Gesamtextraktes

Zur genauen Identifizierung der einzelnen Anthrachinonflecke im methanolischen Gesamtextrakt, die bei der Chromatographie im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser zu erkennen sind, trennten wir diesen auf einer Polyamidsäule weiter auf.

Zunächst stellten wir durch 1stündiges Erhitzen auf dem Dampfbad einen 10%igen methanolischen Drogenauszug her. Davon wurde 25 ml zur Trockne eingedampft, in 10 ml warmem Wasser aufgenommen und eine Polyamidsäule (Ultramid K 228 BM 2 der Fa. BASF) von 23 cm Füllhöhe und 5 cm Durchmesser damit beschickt. Das Adsorbens war bereits tagszuvor mit Wasser angeschlämmt worden. Wir eluierten zunächst mit Wasser. Die Fraktionen unterteilten wir in 60 ml, später in 100 ml. Ab der 10. Fraktion ersetzten wir das Wasser durch Methanol/Wasser-Mischungen in steigender Konzentration und zum Schluß eluierten wir mit n/2 Kalilauge. Der Wechsel der Elutionsflüssigkeit erfolgte entsprechend der im UV-Licht zu beobachtenden Zonenbildung.

Die wässrigen und methanolischen Fraktionen wurden nach dem Einengen auf ca. 5 ml im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) chromatographiert. Die alkalischen Säulenfraktionen schüttelten wir nach dem Ansäuern mit Äther aus und brachten die eingeengten Ätherphasen im gleichen System zur Chromatographie.

Zur Identifizierung der auftretenden Glukosidzonen wurde je 1 ml der eingeengten Säulenfraktionen nach der eingangs beschriebenen Methode hydrolysiert und die in Äther geschüttelten Aglykone im System Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol (4:1:1:2) papierchromatographisch bestimmt. Die Ätherphasen der alkalischen Eluate untersuchten wir im gleichen Fließmittel.

Das Ergebnis dieser Untersuchungsreihe ist in der nachfolgenden Tabelle aufgeführt. Bei der Auswertung wurden auch Ergebnisse späterer Untersuchungen berücksichtigt.

T a b e l l e 11

Auftrennung eines methanolischen Gesamtextraktes

Fraktion	Elutionsmittel	Substanz	Fleck in PÄW
1-3	60 ml Wasser	Rheindiglukosid	1
4-6	60 ml Wasser	Mischzone	1 u. 2
7-9	100 ml Wasser	Rheinmonoglukosid	2
10-12	100 ml 30% Methanol	Aloeemodinglykosid	3
13-14	100 ml 50% Methanol	Aloeemodinglykosid	3
15-17	100 ml 50% Methanol	Chrysophansäureglykosid	4
18	100 ml 70% Methanol	Mischzone	4 u. 6
19	100 ml 80% Methanol	Aloeemodinmonoglukosid A	6
20	100 ml 80% Methanol	Mischzone	6 u. 7
21-32	100 ml Methanol	Monoglukoside:	7
		Chrysophansäure B Physcion C Rheumemodin D	
33-36	100 ml n/2 KOH	Aglukone:	8
		Aloeemodin Chrysophansäure Physcion Rheumemodin	
		Rhein	5

2. Papierchromatographie verschiedener Rheum-Drogen und der Arzneibuchzubereitungen

Zur Untersuchung der Handelsdrogen und der Arzneibuchzubereitungen kam das System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) zur Anwendung. Dabei richteten wir unsere Aufmerksamkeit hauptsächlich auf den Nachweis der Rhaponticins. Als Testsubstanzen verwendeten wir einen 10%igen mehtanolischen Gesamtextrakt, den wir aus einer Droge der Fa. H. Unfried, München, hergestellt hatten, sowie eine Lösung von Rhaponticin. Diese Testsubstanz hatten wir durch Auflösen von 5 Dragees Phytoestrol der Fa. Müller, Göppingen, nach dem Zerstoßen in 15 ml Methanol erhalten. Die Identifizierung erfolgte unbesprüht bzw. nach dem Besprühen mit einer 1%igen methanolischen Magnesiumacetatlösung im UV-Licht. Rhaponticinhaltige Drogen und Zubereitungen zeigten einen großen intensiv blauviolett fluoreszierenden Flecken bei R_f 0.78. Ihnen fehlten außerdem im unteren R_f-Bereich die orange fluoreszierenden Anthrachinonzonen.

Zur Chromatographie der Handelsdrogen bereiteten wir 10% methanolische Auszüge durch 10minütiges Schütteln und leichtes Erwärmen. Es kamen Rhabarberdrogen der verschiedensten Drogengroßhandlungen und Apotheken zur Untersuchung.

Bei den Arzneibuchzubereitungen des Deutschen Arzneibuches handelt es sich um Tinctura Rhei aquosa und Tinctura Rhei vinosa. Die wässrigen Tinkturen konnten direkt chromatographiert werden, während der hohe Zuckergehalt des weinhaltigen Auszugs eine vorherige Extraktion der Anthrachinone erforderte. Zu diesem Zweck wurden 5 ml Tinctura Rhei vinosa mit der gleichen Menge Äthylacetat 10 Minuten geschüttelt, die organische Phase abgetrennt und nach dem Einengen auf das halbe Volumen zur Chromatographie gebracht.

D. Identifizierung der Glukoside

1. 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid (Glukosid A)

Das Glukosid A zeigt einen Schmelzpunkt von 237 - 238°C. Die Chromatographie wurde im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) auf Papier und in 60% Methanol auf der Polyamidplatte durchgeführt und brachte folgendes Ergebnis:

PÄW R_f 0.75; 60% Methanol R_f 0.43

Die Verbrennungsanalyse des Glukosids A ergab folgende Werte:

$C_{21}H_{20}O_{10}$ (432.37)

ber. $C_{21}H_{20}O_{10}$		58.33 %C	4.66 %H
ber. $C_{21}H_{20}O_{10} \cdot 1/2\ H_2O$	(441.38)	57.14 %C	4.79 %H
gef.		56.91 %C	4.68 %H

Die Berechnung erfolgte auf ein Aloeemodinmonoglukosid. Das UV-Spektrum wurde bei einer Konzentration von 1.15 mg/100 ml Methanol gemessen und zeigte folgende Maxima:

Max. I	223 mμ	$\log \varepsilon = 4.4264$
Max. II	255 mμ	$\log \varepsilon = 4.3234$
Max. III	410 mμ	$\log \varepsilon = 3.8762$

Das IR-Spektrum wurde in einer Konzentration von 800 γ/300 mg KBr als KBr-Preßling gemessen.

Die qualitative Hydrolyse führte zur Bestimmung des Aglukon- und Zuckeranteils. Der Schmelzpunkt des Aglukons betrug 223 - 224°C und zeigte im Mischschmelzpunkt mit authentischem Aloeemodin keine Depression. Die R_f-Werte im System Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol (4:1:1:2) waren:
Aglukon A R_f 0.38; Aloeemodin R_f 0.39

Der Zuckeranteil wurde in den Systemen Äthylacetat/Pyridin/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2) bestimmt und zeigte als Ergebnis:

	R_f in ÄPW	R_f in sek.BEW
Zucker A	0.35	0.41
Glukose	0.35	0.40

Die spektrophotometrische Gehaltsbestimmung des Aglykons erfolgte nach der quantitativen Analyse. Die Berechnung erfolgte nach der auf Seite 55 angegebenen Eichkurve auf ein Monoglukosid.

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt.Eichkurve in mg	in %	Berechnete Aglykonmenge in %
2.20	0.231	1.32	60.0	60.0

Nach der Anthronmethode ermittelten wir den prozentualen Glukoseanteil. Die im gleichen Arbeitsgang mitbestimmte Extinktion einer Glukoselösung (91 γ/ml) wurde mit 0.7 gemessen. Wir berechneten die theoretische Zuckermenge auf ein Monoglukosid.

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt.Bezugswert in %	Berechneter Glukosegehalt in %
1.65	0.56	41.36	40.0

Die Acetylierung erfolgte nach der eingangs beschriebenen Methode.
Einwaage: 51 mg Auswaage: 31 mg Ausbeute: 40.9%

Der Schmelzpunkt des Acetats betrug 187°C (unkorr.). Die Berechnung der Mikroanalyse auf ein Pentaacetat brachte nachfolgendes Ergebnis:

$C_{31}H_{30}O_{15}$ (642.55)

ber. 57.94 %C 4.71 %H 33.50 %CO-CH_3
gef. 58.05 %C 4.96 %H 33.82 %CO-CH_3

Das IR-Spektrum wurde als KBr-Preßling gemessen.
Konzentration: 1 mg/300 mg KBr.

2. 1,8-Dihydroxy-3-methyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid (Glukosid B)

Das Glukosid B hat einen Schmelzpunkt von 245 - 246°C.
Die Chromatographie auf dem Papier im Laufmittel n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) und auf der Platte in 60% Methanol

zeigte folgende R_f-Werte:

PÄW R_f 0.86; 60% Methanol R_f 0.33

Die Verbrennungsanalyse, berechnet auf ein Chrysophansäure-monoglukosid, zeigte als Ergebnis:

$C_{21}H_{20}O_9$ (416.37)

ber. für $C_{21}H_{20}O_9$	60.57 %C	4.84 %H
ber. für $C_{21}H_{20}O_9 \cdot 1\ H_2O$ (434.39)	58.06 %C	5.02 %H
gef.	57.98 %C	4.99 %H

Das UV-Spektrum zeigte bei einer Einwaage von 2.35 mg/100 ml Methanol p.a. drei Banden.

Max. I	220 mμ	log ε	= 4.2974
Max. II	257 mμ	log ε	= 4.1232
Max. III	410 mμ	log ε	= 3.7033

Das IR-Spektrum wurde als KBr-Preßling in einer Konzentration von 577 γ/300 mg KBr gemessen.

Nach der qualitativen Hydrolyse zeigte das Aglykon B einen Schmelzpunkt von 194 - 195°C, während die Literatur für Chrysophansäure 194 - 196°C angibt. Der papierchromatographische Nachweis mit authentischer Testsubstanz zeigte Übereinstimmung im System Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol (4:1:1:2) sowie auf der Dünnschichtplatte in Methanol/Benzol (95:5)(MB)

	R_f in PTXM	R_f in MB
Aglukon B	0.92	0.6
Chrysophansäure	0.92	0.6

Die Bestimmung der Zucker auf dem Papierchromatogramm in den Laufmitteln Äthylacetat/Pyridin/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2) brachte folgendes Ergebnis:

	R_f in ÄPW	R_f in sek.BEW
Zucker von Glukosid B	0.36	0.41
Glukose	0.35	0.42

Die quantitative spektrophotometrische Bestimmung des Aglukons nach der Hydrolyse berechneten wir auf ein Chrysophansäuremonoglukosid nach der auf Seite 55 angegebenen Eichkurve.

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt. Eichkurve in mg	Gehalt lt. Eichkurve in %	Berechnete Aglykonmenge in %
2.4	0.306	1.39	57.9	58.5

Den Glukoseanteil ermittelten wir nach der Anthronmethode. Die Extinktion einer gleichzeitig mitbestimmten Glukoselösung (91 γ/ml) betrug 0.7. Die Berechnung erfolgte auf ein Monoglukosid.

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt. Bezugswert in %	Berechneter Glukosegehalt in %
1.8	0.6	43.3	41.5

Die Acetylierung führten wir nach der Methode durch, wie sie im Abschnitt für allgemeine Arbeitsvorschriften beschrieben wurde.

Einwaage: 49.5 mg Auswaage: 33 mg Ausbeute: 44.32%
Der Schmelzpunkt betrug 186 - 187°C.
Die Berechnung der Mikroanalysen erfolgte auf ein Pentaacetat des Chrysophansäuremonoglukosids.

$C_{31}H_{30}O_{14}$ (626.55)

ber. 59.42 %C 4.83 %H 34.35 %CO-CH_3

gef. 59.18 %C 4.92 %H 34.21 %CO-CH_3

Die spezifische Drehung wurde in Aceton gemessen.

Einwaage: 100.6 mg/20 ml c = 0.503 g/100 ml l = 2 dm

$\alpha\ ^{20}_{D} = -0.81°$ $\quad [\alpha]\ ^{20}_{D} = -80.7°$

3. <u>1,8-Dihydroxy-3-methyl-6-methoxy-anthrachinon-1-oder-8-mono-β--d-glucosid (Glukosid C)</u>

Das Glukosid C zeigte einen Schmelzpunkt von 235°C. Der Mischschmelzpunkt mit einem synthetischen Physcion Glukosid brachte keine Depression.

Die R_f-Werte waren mit denen des Syntheseproduktes auf dem Papierchromatogramm in n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) und auf der Polyamidplatte in 60%igem Methanol identisch.

	R_f in PÄW	R_f in 60%igem Methanol
Glukosid C	0.86	0.15
Physcion-Glukosid	0.86	0.15

Die C-H-Werte berechnet auf ein Physcionmonoglukosid ergaben gute Übereinstimmung.

$C_{22}H_{22}O_{10}$ (446.39)

ber. 59.19 %C 4.97 %H
gef. 59.85 %C 5.37 %H

Das UV-Spektrum in Methanol zeigte drei Maxima. Die Einwaage betrug 1 mg/100 ml Methanol p.a.

Maximum I	223 mμ	$\log \varepsilon = 4.5370$
Maximum II	270 mμ	$\log \varepsilon = 4.4066$
Maximum III	420 mμ	$\log \varepsilon = 3.9403$

Das IR-Spektrum wurde als Überlagerungsspektrum mit dem synthetischen Glukosid in KBr gemessen.

Konzentration: von Glukosid C 1000 γ/300 mg KBr
von Physcionglukosid 1000 γ/300 mg KBr

Die Hydrolyse lieferte ein Aglykon vom Schmelzpunkt 204°C. Es zeigte mit authentischem Physcion keine Depression. Aglykon C und Physcion wurden papierchromatographisch im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) und auf der Dünnschichtplatte in Methanol/Benzol (95:5) verglichen.

	R_f in PTXM	R_f in MB
Aglukon C	0.93	0.36
Physcion	0.93	0.36

Den Zucker des Glykosids C identifizierten wir papierchromatographisch in den Systemen Äthylacetat/Pyridin/Wasser (7:2:1) und sek.Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2).

	R_f in ÄPW	R_f in sek.BEW
Zucker des Glykosids C	0.33	0.42
Glukose	0.34	0.42

Die quantitative spektrophotometrische Aglykonbestimmung zeigte bei der Berechnung auf ein Physcionmonoglukosid nach der Eichkurve auf Seite 55 folgendes Ergebnis:

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt.Eichkurve in mg	in %	Berechnete Aglykonmenge in %
1.55	0.147	0.98	61.2	61.2

Die quantitative Zuckerbestimmung wurde nach der Anthronmethode durchgeführt. Der Bezugswert einer Glukoselösung (91 γ/ml) zeigte eine Extinktion von 0.7. Die Berechnung erfolgte auf ein Physcionmonoglukosid.

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt.Bezugswert in %	Berechneter Glukosegehalt in %
2.0	0.63	40.9	38.8

Die Acetylierung führten wir nach dem auf Seite 56 beschriebenen Verfahren durch. Zur besseren Lösung setzten wir dem Acetylierungsgemisch wenige Tropfen Pyridin zu. Die Kristallisation aus Methanol führte zu einem Gel. Aus Benzol erhielten wir lange fadenförmige, jedoch sehr voluminöse Kristalle vom Schmelzpunkt 169 - 170°C. Bei der Acetylierung des synthetischen Physcionglukosids wurde das gleiche Kristallisationsverhalten beobachtet.

Einwaage: 55 mg Auswaage: 26 mg Ausbeute: 32.13%

Die Mikroanalyse zeigt bei einer Berechnung auf ein Pentaacetat kein befriedigendes Ergebnis. Die Ursachen für diesen Befund wurden bereits eingehend im allgemeinen Teil diskutiert.

$C_{32}H_{32}O_{15}$ (656.58)

ber. 58.53 %C 4.91 %H 32.78 %CO-CH_3

gef. 59.12 %C 5.12 %H 30.41 %CO-CH_3

4. 1,6,8-Trihydroxy-3-methyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid (Glukosid C)

Das Glukosid C hat einen Schmelzpunkt von 189 - 191°C.
Die Chromatographie führten wir in dem System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) auf dem Papier und dünnschichtchromatographisch auf der Polyamidplatte in 60%igem Methanol durch.

R_f in PÄW 0.86; R_f in 60%igem Methanol 0.1

Die Verbrennungsanalyse hinterließ bei einer Einwaage von 4.185 mg einen unverbrennbaren Rückstand von 0.052 mg. Die Berechnung erfolgte auf ein Rheumemodinmonoglukosid.

$C_{21}H_{20}O_{10}$ (432.37)

ber. für $C_{21}H_{20}O_{10}$	58.33 % C	4.66 %H
ber. für $C_{21}H_{20}O_{10} \cdot H_2O$ (440.38)	57.14 % C	4.79 %H
gef.	57.43 % C	4.98 %H

Das UV-Spektrum wurde bei einer Konzentration von 1.3 mg/100 ml Methanol p.a. gemessen und zeigte drei Maxima.

Max. I	222 mμ	$\log \varepsilon$ = 4.4196
Max. II	283 mμ	$\log \varepsilon$ = 4.2380
Max. III	420 mμ	$\log \varepsilon$ = 3.3348

Das IR-Spektrum wurde als KBr-Preßling in einer Konzentration von 861 γ/300 mg KBr gemessen.

Die qualitative Hydrolyse lieferte ein Aglykon vom Schmelzpunkt 254 - 255°C. Ein Mischschmelzpunkt mit authentischem Rheumemodin brachte keine Depression.

Die papierchromatographische Prüfung im System Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol (4:1:1:2) zeigte die Identität beider Substanzen.

Aglykon D R_f in PTXM 0.61; Rheumemodin R_f in PTXM 0.61

Die Zuckerkomponente identifizierten wir papierchromatographisch in den Systemen Äthylacetat/Pyridin/Wasser (7:2:1) und sek. Butanol/Eisessig/Wasser (5:3:2).

	R_f in ÄPW	R_f in sek.BEW
Zucker von Glykosid D	0.35	0.4
Glukose	0.35	0.41

Die quantitative Bestimmung des Aglukons wurde spektrophotometrisch nach der Hydrolyse durchgeführt. Die Berechnung erfolgte auf ein Rheumemodinmonoglukosid nach der Eichkurve (S.55).

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt. Eichkurve in mg	in %	Berechnete Aglykonmenge in %
1.65	0.2725	0.99	58.3	60.0

Den Glukoseanteil ermittelten wir nach der Anthronmethode. Der Bezeugswert einer Glukoselösung (91 γ/ml) hatte eine Extinktion von 0.7. Die Berechnung erfolgte auf ein Monoglukosid.

Einwaage mg	Extinktion	Gehalt lt. Bezugswert in %	Berechneter Glukosegehalt in %
1.85	0.6	42.1	40.0

Die Acetylierung erfolgte nach der im Kapitel für allgemeine Arbeitsvorschriften (S.56) beschriebenen Weise. Sie lieferte ein Acetat vom Schmelzpunkt 204°C.

Einwaage: 50.5 mg Auswaage: 29 mg Ausbeute: 36.7%

Die Mikroanalyse wurde auf ein Hexaacetat berechnet.

$C_{33}H_{32}O_{16}$ (684.59)

ber. 57.89 %C 4.71 %H 36.27 %CO-CH_3

gef. 57.92 %C 4.71 %H 37.71 %CO-CH_3

E. Synthese von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glukosid (Aloeemodinmonoglukosid)

1. Reinigung des Aloins

Das Aloin B.P. der Fa. Synochem., Berlin, hatte einen Schmelzpunkt von 92 - 96°C und mußte viermal aus Methanol umkristallisiert werden, wobei der Schmelzpunkt auf 135°C anstieg. Die Ausbeute betrug 45.0 g bei 80.0 g Ausgangssubstanz.

Das Papierchromatogramm zeigte im System Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:5) einen Aloinflecken bei R_f 0.65, der nur von wenig Verunreinigungen begleitet war.

2. Gewinnung von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon (Aloeemodin)

Wir versetzten 45.0 g unseres gereinigten Aloins mit einer Lösung von 180 g Eisen-III-chlorid in 720 ml Wasser. Dazu gaben

wir 1000 ml Aceton. Dieses Gemisch wurde 3 Stunden lang am Rückflußkühler im Sieden gehalten. Anschließend destillierten wir das Aceton und die Hauptmenge des Wassers ab. Der noch feuchte Rückstand wurde in einer Porzellanschale auf dem Dampfbad zur Trockne gebracht und anschließend 8 mal mit je 500 ml Benzol in der Siedehitze extrahiert. Die braungefärbten Benzollösungen wurden jeweils 4 mal mit 80 ml 5%iger Salzsäure und später 2 mal mit 100 ml Wasser gewaschen. Die Benzollösungen vereinigten wir, trockneten sie über Natriumsulfat und engten sie stark ein. Beim Erkalten fielen große Kristallnadeln aus, die durch nochmaliges Umkristallisieren aus Methanol gereinigt wurden. Die Ausbeute betrug mit 4.5 g Aloeemodin 15% der Theorie.

3. Identifizierung des 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinons

Das kristalline Produkt zeigte einen Schmelzpunkt von 223°C, der mit dem der Literatur für Aloeemodin 223 - 225°C identisch ist.

Das Spaltprodukt hatte im System Petroläther/Toluol/Xylol/Methanol (4:1:1:2) einen R_f-Wert von 0.39.

Die Verbrennungsanalyse ergab folgende Werte:

$C_{21}H_{10}O_5$ (270.23)

ber.	66.97 %C	3.65 %H
gef.	66.71 %C	3.75 %H

Die Messung des UV-Spektrums erfolgte bei einer Konzentration von 0.65 mg/100 ml Methanol p.a.. Es zeigte vier Banden.

Max. I	226 mμ	$\log \varepsilon = 4.5772$
Max. II	255 mμ	$\log \varepsilon = 4.3144$
Max. III	287 mμ	$\log \varepsilon = 3.9811$
Max. IV	430 mμ	$\log \varepsilon = 4.0269$

Das IR-Spektrum wurde in einer Konzentration von 2 mg/800 mg KBr gemessen.

Das Aloeemodin wurde nach dem üblichen Verfahren acetyliert und lieferte gelbgrüne Kristalle vom Schmelzpunkt 187°C. Der Schmelzpunkt ist identisch mit dem in der Literatur für ein Aloeemodintriacetat angegebenen Wert.

Einwaage: 100 mg Auswaage: 53 mg Ausbeute: 36.1% der Theorie

Die Mikroanalyse berechneten wir auf ein Aloeemodintriacetat.

$C_{21}H_{16}O_8$ (396.34)

ber.	63.63 %C	4.08 %H	32.58 %CO-CH_3
gef.	63.34 %C	3.98 %H	31.72 %CO-CH_3

4. Darstellung von 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosidtetraacetat

In einem Erlenmeyer-Kolben versetzten wir eine Lösung von 1.5 g Aloeemodin in 10 ml frisch destelliertem Chinolin mit 4 g Acetobromglukose, die in 10 ml Benzol gelöst war. Zu dieser Mischung gaben wir 1.2 g Silberoxyd und schüttelten das Reaktionsgemisch 15 Stunden lang. Das Silberoxyd bzw. Silberbromid wurde abgesaugt, mit wenig Benzol nachgewaschen und dieses mit dem dunkelbraunen Chinolin-Benzol-Gemisch vereinigt. Das Reaktionsgemisch verdünnten wir mit 30 ml Benzol und entfernten daraus das Chinolin durch 5maliges Ausschütteln mit je 20 ml 5% Salzsäure. Danach wurde das Benzol 3 mal mit 25 ml destilliertem Wasser säurefrei gewaschen. Die vereinigten wässrigen Phasen zeigten noch eine intensive Gelbfärbung. Sie wurden daher noch 4 mal mit je 30 ml Benzol extrahiert, das durch mehrmaliges Ausschütteln mit Wasser säurefrei gewaschen wurde. Die vereinigten Benzollösungen trockneten wir über Natriumsulfat und dampften dieses unter vermindertem Druck völlig ab. Der dunkelbraune Rückstand war in allen organischen Lösungsmitteln gut löslich. Sämtliche Versuche, daraus das Aloeemodinglukosidtetraacetat in kristalliner Form zu gewinnen, blieben erfolglos. Es wurde jeweils nur eine braungelbe schmierige Substanz erhalten. Der Rückstand wurde daraufhin 4 mal mit je 100 ml 50% Methanol in der Hitze extrahiert. Aus der Lösung schied sich im Eisschrank ein flockiger hellbrauner Niederschlag ab, der jedoch ebenfalls allen Kristallisationsversuchen wider-

stand. Die Auswaage betrug 2.4 g.

5. Vollständige Acetylierung des 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder 8-β-d-glucosidtetraacetates

a) Acetylierung in Pyridin-Essigsäureanhydrid

0.5 g des Tetraacetats versetzten wir mit 5 ml einer Pyridin-Essigsäureanhydrid-Mischung 6:4 und erhitzten es 1 Stunde auf dem Dampfbad. Das Reaktionsgemisch blieb nun 24 Stunden in der Dunkelheit stehen, wurde dann mit viel Wasser verdünnt und das abgeschiedene hellbraune Acetat abgesaugt. Den getrockneten Niederschlag lösten wir in wenig heißem Methanol, kochten mit einer Messerspitze Aktivkohle und brachten das Acetat unter tropfenweisem Zusatz von Eisessig zur Kristallisation. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus Methanol wurden grüngelbe Nadeln erhalten, deren Schmelzpunkt 203 - 204°C betrug. Die Ausbeute war 120 mg.

Einwaage: 500 mg Auswaage: 120 mg Ausbeute: 21%

Die Berechnung der Mikroanalyse erfolgte auf ein Hexaacetat.

$C_{33}H_{32}O_{16}$ (684.59)

ber. 57.89 %C 4.71 %H 37.27 %CO-CH_3

gef. 57.82 %C 4.62 %H 37.20 %CO-CH_3

Die spezifische Drehung wurde in Aceton bestimmt.

Einwaage: 43.4 mg/5 ml c = 0.868 g/- 100 ml, l = 0.5 dm

$\alpha\ {}^{20}_{D} = -0.258^{\circ}$ $[\alpha]\ {}^{20}_{D} = -59.44^{\circ}$

Das IR-Spektrum wurde als KBr-Preßling gemessen:

Konz. = 1 mg/300 mg KBr

b) Acetylierung in Essigsäureanhydrid-Natriumacetat

Die restlichen 1.9 g des Tetraacetats acetylierten wir nach dem im Abschnitt für allgemeine Arbeitsmethoden beschrieben Verfahren. Es dauerte mehrere Tage bis das Acetat im Wasser fest wurde. Die Kristallisation des Rohproduktes aus wenig Methanol erfolgte unter tropfenweiser Zugabe von Eisessig. Nach mehrmaligem Umkristallisieren betrug der Schmelzpunkt 203°C. Ein Mischschmelzpunkt mit dem nach Verfahren a) gewonnenen Acetat brachte keine Depression.

Einwaage: 1.9 g Auswaage: 0.43 g Ausbeute: 19.9%

Die Berechnung der Mikroanalyse erfolgte auf ein Aloeemodinglukosidhexaacetat.

$C_{33}H_{32}O_{16}$ (684.59)

ber.	57.89%C	4.71%H	37.27%$COCH_3$
gef.	57.52%C	4.60%H	37.45%$COCH_3$

Die Drehung des Acetats bestimmten wir in Aceton.

Einwaage: 38.1 mg/5 ml c = 0.762 g/100 ml, l = 0.5 dm

$$\alpha_D^{20} = -0.22° \qquad [\alpha]_D^{20} = -58.89°$$

Das IR-Spektrum wurde als KBr-Preßling gemessen:
Konz. 1 mg/300 mg KBr

6. Verseifung des 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosid-hexaacetates

500 mg der Acetate verseiften wir 5 Minuten mit 25 ml 1% methanolischer Kalilauge am Rückflußkühler. Die Lauge neutralisierten wir sofort mit Eisessig. Dabei schlug die intensiv rote Farbe der Lösung in gelb um. Alle Versuche aus dem Methanol oder anderen Lösungsmitteln das Glukosid direkt zu kristallisieren, schlugen fehl. Daher verdünnten wir den Alkohol mit 150 ml Wasser, säuerten mit 2 Tropfen Salzsäure an und extrahierten die wässrige Phase 6 mal mit je 300 ml Äthylacetat. Dieses wurde über Natriumsulfat getrocknet, im Vakuum zur Trockne eingedampft und der goldgelbe Rückstand mit wenig

heißem Methanol aufgenommen. Beim Erkalten schied sich das Glukosid in gelben Nadeln aus, die noch mehrfach aus Methanol umkristallisiert wurden.

Einwaage: 500 mg Auswaage: 160 mg Ausbeute: 50.7% der Theorie

7. Experimentelle Daten des synthetischen 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosids (Aloeemodinmonoglukosid)

Den Schmelzpunkt ermittelten wir mit 238°C. Ein Mischschmelzpunkt mit dem isolierten Aloeemodinglukosid zeigte keinerlei Depression.

Die Chromatographie des synthetischen Glukosids brachte im Vergleich mit dem isolierten Glukosid auf dem Papier im System n-Propanol/Äthylacetat/Wasser (4:3:3) und auf der Platte in 60%igem Methanol folgendes Ergebnis:

	R_f in ÄPW	R_f in 60%igem Methanol
Aloeemodinglukosid synth.	0.75	0.43
Aloeemodinglukosid isol.	0.75	0.43

Die Verbrennungsanalyse lieferte folgende Werte:

$C_{21}H_{20}O_{10}$ (432.37)

ber.	58.33%C	4.67%H
gef.	58.64%C	4.85%H

Das UV-Spektrum wurde in Methanol gemessen und mit dem des isolierten Glukosids verglichen (Werte des isolierten Glukosids in Klammern).

Maximum	Wellenlänge mμ	log. ε
I	223 (223)	4.4348 (4.4264)
II	255 (255)	4.3310 (4.3234)
III	410 (410)	3.8874 (3.8762)

Das IR-Spektrum wurde in KBr gemessen 1 mg/300 mg KBr.

8. Acetylierung des synthetischen 1,8-Dihydroxy-3-hydroxymethyl-anthrachinon-1-oder-8-mono-β-d-glucosids

Die Acetylierung erfolgte nach der eingangs beschriebenen Methode und lieferte ein gelbgrünes kristallines Acetat vom Schmelzpunkt 187°C. Ein Mischschmelzpunkt mit dem Pentaacetat des isolierten Aloeemodinglukosids zeigte keine Depression.

Die Mikroanalyse führte zu dem Ergebnis, daß ein Aloeemodin-pentaacetat vorlag.

$C_{31}H_{30}O_{15}$ (642.55)

ber.	57.94%C	4.71%H	33.50%$COCH_3$
gef.	57.59%C	4.51%H	33.78%$COCH_3$

Einwaage: 95 mg Auswaage: 56 mg Ausbeute: 39.8% der Theorie

Die Optische Drehung wurde in Aceton gemessen.

Einwaage: 39.25 mg/5 ml c: 0.785 g/100 ml l: 0.5 dm

$\alpha_D^{20} = -0.355°$ $[\alpha]_D^{20} = 91.61°$

Die Messung des IR-Spektrums erfolgte als Überlagerungsspektrum mit dem Acetat des isolierten Aloeemodinglukosids. Dazu wurden die Substanzen in KBr gepreßt.

Isoliertes Glukosid: 1 mg/300 mg KBr
Synthetisches Glukosid: 1 mg/300 mg KBr

L e b e n s l a u f

Am 13. Februar 1934 wurde ich, Hans-Jürgen Adolf L e u e , als Sohn des Apothekers Carl Leue und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Upmeyer, in Lübbecke/Westfalen geboren.

Nach vierjährigem Besuch der Volksschule in Lübbecke wechselte ich Ostern 1944 zur dortigen Mittelschule über. Ab 1947 besuchte ich die Aufbauschule in Lübbecke, an der ich im März 1953 mein Abitur ablegte.

Meine zweijährige Berufsausbildung als Apothekerpraktikant begann ich im April 1953 in der Wittekind-Apotheke in Bünde und schloß sie im März 1955 mit der pharmazeutischen Vorprüfung in Detmold ab.

Vom Sommer-Semester 1955 bis zum Sommer-Semester 1958 studierte ich Pharmazie an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität in Bonn, an der ich im Oktober 1958 das Studium mit dem pharmazeutischen Staatsexamen beendete.

Vom November 1958 bis zum April 1959 war ich in der väterlichen Apotheke in Lübbecke als Kandidat der Pharmazie tätig und erhielt im Oktober 1959 meine Bestallung als Apotheker.

Die vorliegende Arbeit begann ich im Mai 1959 am Institut für pharmazeutische Arzneimittellehre der Universität München unter Leitung von Herrn Professor Dr. Ludwig Hörhammer. Sie wurde im März 1962 abgeschlossen.